



**Ana Teresa Marques
de Matos**

**Implementação de melhorias na quantificação
de metais em água na empresa A.Logos**



**Ana Teresa Marques
de Matos**

**Implementação de melhorias na quantificação
de metais em água na empresa A.Logos**

Trabalho apresentado à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia Industrial e Ambiental, realizada sob a orientação científica da Doutora Lina Carvalho do Laboratório Central de Análises e da Professora Doutora Eduarda Pereira do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

o júri

Presidente

Prof. Doutor João Manuel Costa Araújo Pereira Coutinho
Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Ricardo Jorge Neves Bettencourt da Silva
Investigador do Centro de Ciências Moleculares e Materiais (CCMM) da Universidade de Lisboa

Prof.^a Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira
Professora Associada Departamento de Química da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Aos meus pais, pelo esforço.

A toda a família, por acreditarem em mim, por todo o apoio e pelo orgulho que sei que sentem.

Aos meus amigos e ao meu namorado, por toda a paciência.

À A.Logos e toda a equipa, pelos meses fantásticos e por toda a ajuda.

À Professora Eduarda e à Doutora Lina, por toda a ajuda e dedicação.

A Aveiro, que me trouxe tantas pessoas fantásticas e tão bons momentos.

palavras-chave

Águas para consumo humano, controlo de qualidade, espectrofotometria de absorção atómica em câmara de grafite, metais, melhoria método.

resumo

O presente trabalho propõe-se contribuir para melhorar o método de quantificação dos metais alumínio, chumbo, cobre, ferro e níquel em águas de consumo humano na empresa A.Logos. A melhoria testada foi a diminuição do número de leituras de padrões e amostras, reduzindo o tempo e os custos associados a esta análise. No trabalho serão abordadas temáticas relativas à água destinada ao consumo humano, à sua contaminação por metais e consequências desta, que permitem evidenciar a importância do controlo de qualidade de águas e da obrigatoriedade do mesmo por lei. Foi efetuado um estudo de verificação do método de quantificação de metais em águas de consumo humano por espectrofotometria de absorção atómica com atomização em câmara de grafite, método utilizado na empresa A.Logos, comparando os resultados obtidos quando padrões e amostras são analisadas com 3 leituras e com 1 leitura. Para efetuar o estudo de verificação do método, foram avaliados os seguintes parâmetros: curva de calibração, limites de deteção e quantificação, análise de brancos, repetibilidade, análise de duplicados, ensaios de recuperação, erro relativo associado aos padrões de controlo e foram efetuadas análises de amostras de águas de consumo humano. Concluiu-se que apesar de uma possível diminuição da sensibilidade e da precisão do método quando se diminui de 3 para 1 o número de leituras, continuam a ser assegurados os critérios de controlo de qualidade estabelecidos pela empresa A.Logos. Assim, é possível diminuir de 3 para 1 o número de leituras realizado na quantificação de metais em águas de consumo humano por espectrofotometria de absorção atómica, ainda que seja conveniente obter mais dados de histórico para validar esta hipótese.

keywords

Drinking water, quality control, graphite furnace atomic absorption spectrometry, metals, method improvement

abstract

This work aimed to contribute to the improvement of the quantification method of the metals aluminum, lead, copper, iron and nickel in drinking water in A.Logos company. The improvement tested was the reduction of the number of readings used in the analysis of standards and samples, reducing the time and costs associated with this method. The work will address issues relating to water intended for human consumption, its metal contamination and consequences of which reflect the importance of water quality monitoring, mandatory by law. A verification study was done to the method of quantification of metals in drinking water used in A.Logos company by atomic absorption spectrophotometry with graphite atomization chamber, comparing the results obtained for this method when using 3 readings per sample or just 1 reading, for several parameters: calibration curve, detection and quantification limits, blanc analysis, repeatability, duplicate analysis, recovery experiments, control by standards and samples analysis. It was concluded that despite a possible decrease in sensitivity and the correctness of the method linked to the reduction of the number of readings per standard and sample, the quality control criteria established by the company continued to be assured. Thus, it is possible to decrease from 3 to 1 the number of readings performed in the quantification of metals in drinking water by atomic absorption spectrophotometry, although it is more convenient to obtain more historical to validate this hypothesis.

Índice

1.	ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS DO ESTÁGIO.....	1
1.1	Local de realização do Estágio de Mestrado - Empresa A.Logos	1
1.2	Objetivos do trabalho de Estágio	2
1.3	Águas para consumo Humano	4
1.3.1	Contaminação de águas para consumo Humano.....	5
1.4	Legislação para águas de consumo humano.....	7
1.5	Espectrofotometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em câmara de grafite para quantificar metais em águas de consumo.....	11
1.6	Acreditação de laboratórios de ensaios químicos	15
1.7	Validação de métodos de ensaio	16
1.7.1	Precisão	17
1.8	Controlo de qualidade de resultados.....	18
1.8.1	Controlo de qualidade interno	19
1.8.2	Controlo de qualidade externo	21
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	23
2.1	Reagentes e equipamentos usados no Estágio.....	23
2.2	Lavagem do material.....	24
2.3	Preparação de soluções padrão	24
2.4	Preparação de amostras	26
2.5	Controlo de qualidade de resultados adotado	26
2.6	Condições de operação do equipamento	27
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1	Curvas de calibração	29
3.2	Estimativa dos limites de deteção e quantificação	33
3.2.1	Limites de deteção e quantificação com base no padrão de menor concentração	34
3.2.2	Limites de deteção e quantificação estimados a partir dos parâmetros da curva de calibração	35
3.3	Análise de brancos	36
3.4	Avaliação da repetibilidade.....	37
3.5	Análise de duplicados.....	39
3.6	Ensaio de recuperação.....	41
3.7	Padrões de controlo	43

3.8	Análise de amostras	45
4.	CONCLUSÕES.....	49
5.	BIBLIOGRAFIA.....	55
6.	ANEXOS	59

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática da macroestrutura da A.Logos.	1
Figura 2 - Fases do processo de atomização em câmara de grafite (Adaptado de Ribeiro 2006).	13
Figura 3 - Curva de calibração do cobre obtida num dos dias de análise para 3 leituras.	30
Figura 4 - Curva de calibração do cobre obtida num dos dias de análise para 1 leitura.	30
Figura 5 - Carta de verificação de brancos do cobre para 3 leituras.	36
Figura 6 - Carta de verificação de brancos do cobre para 1 leitura.	37
Figura 7 - Carta de controlo de duplicados do cobre para 3 leituras.	40
Figura 8 - Carta de controlo de duplicados do cobre para 1 leitura.	40
Figura 9 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do cobre para 3 leituras.	42
Figura 10 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do cobre para 1 leitura.	42
Figura 11 - Carta de controlo do PC2 do cobre para 3 leituras.	43
Figura 12 - Carta de controlo do PC5 do cobre para 3 leituras.	44
Figura 13 - Carta de controlo do PC2 do cobre para 1 leitura.	44
Figura 14 - Carta de controlo do PC5 do cobre para 1 leitura.	44
Figura 15 - Correlação da concentração de cobre nas amostras analisadas com 3 e 1 leitura.	47

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Valores paramétricos, veracidade, precisão e limite de detecção para água de consumo para os elementos em estudo neste trabalho (Adaptado da Directiva 98/83/CE e do Decreto-Lei 306/2007).	10
Tabela 2 - Limites de detecção e quantificação (em $\mu\text{g/L}$), estipulados por lei para os metais em estudo (Adaptado do Decreto-Lei 306/2007).	10
Tabela 3 - Diferenças entre os métodos de espectrofotometria de absorção atómica com atomização em chama e em câmara de grafite (Adaptado de Elemental 2001; Magarini 2008; Tyler 1991; Tyler 2014).	12
Tabela 4 - Lista de reagentes e equipamentos usados no Estágio na A.Logos.....	23
Tabela 5 - Concentrações e volumes a medir na preparação das soluções padrão de concentração intermédia.	24
Tabela 6 - Concentrações e volumes a medir na preparação das soluções padrão de calibração.....	25
Tabela 7 - Concentrações e volumes a medir na preparação das soluções padrão de controlo.....	25
Tabela 8 – Resultados de <i>z-score</i> obtidos pela A.Logos na participação no ensaio interlaboratorial organizado pela RELACRE em 20014.	26
Tabela 9 – Parâmetros de funcionamento do equipamento.....	27
Tabela 10 – Programa de temperaturas do forno de grafite.	27
Tabela 11 - Parâmetros das curvas de calibração para o cobre.	31
Tabela 12 - Teste t para comparação de médias para o declive e ordenada na origem das curvas de calibração dos metais em estudo.	33
Tabela 13 – Limite de detecção e quantificação para os metais em estudo.	34
Tabela 14 – Limites de detecção e quantificação obtidos a partir dos parâmetros curva da calibração e valores do LD e LQ usados na A.Logos.	35
Tabela 16 - Repetibilidade e respetivo coeficiente de variação para os metais em estudo com 3 e 1 leituras.....	38
Tabela 16 – Valores de regressão para a correlação das amostras analisadas para o cobre.....	47
Tabela 17 – Valores obtidos para os diversos parâmetros em estudo, para cada um dos metais e para 3 e 1 leituras.....	53

1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS DO ESTÁGIO

1.1 Local de realização do Estágio de Mestrado - Empresa A.Logos

A A.Logos - Associação para o Desenvolvimento de Assessoria e Ensaios Técnicos, com sede no Parque Tecnológico, TagusValley, da cidade de Abrantes é uma associação de direito privado de interesse público e sem fins lucrativos, cuja principal atividade é o apoio a autarquias, empresas, organismos do estado e público em geral. A macroestrutura da empresa A.Logos é apresentada na Figura 1.

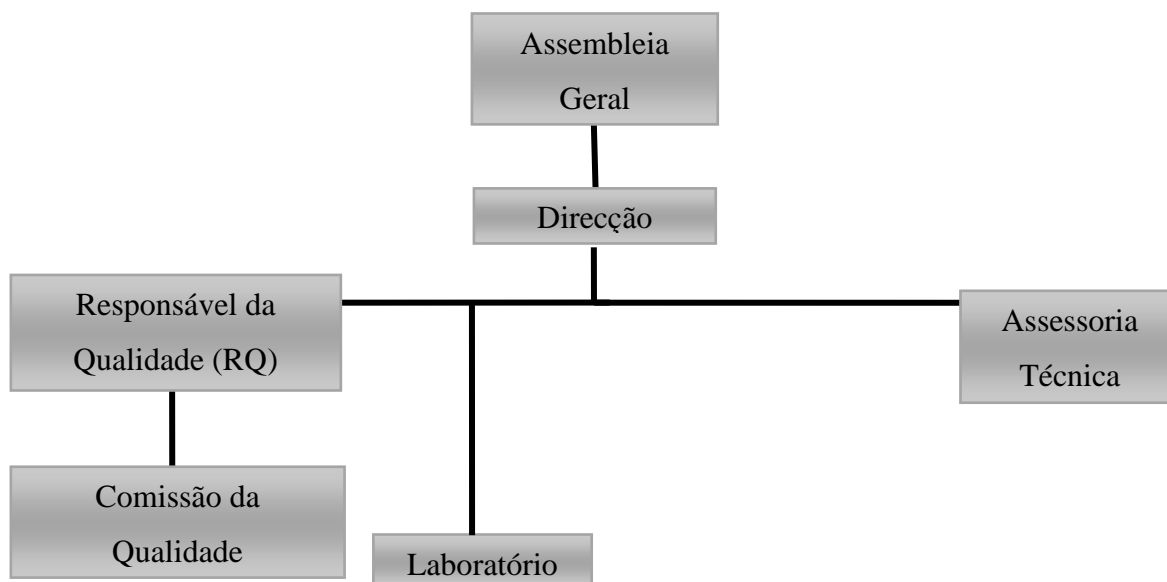


Figura 1 - Representação esquemática da macroestrutura da A.Logos.

São associados da A.Logos as câmaras municipais de Abrantes, Constância, Mação, Entroncamento e Ferreira do Zêzere e os Serviços Municipalizados de Tomar.

A Associação surgiu em 1997 como CEGAT – Centro de Estudos de Gestão do Ambiente e do Território, para dar seguimento às funções do LABGATA, Laboratório de Análises de Água do GAT de Abrantes, cujo funcionamento reporta a 1985. Em 2004 com a mudança de instalações e alargamento do âmbito de atuação, nomeadamente ao controlo analítico de géneros alimentícios e de alimentos para animais, a sua designação foi alterada.

Na A.Logos são desenvolvidas atividades relativas ao controlo de qualidade de águas de abastecimento, efluentes, piscinas, géneros alimentícios e alimentos para animais [1; 2]. A A.Logos pratica ainda atividades extralaboratoriais, no âmbito da Assessoria Técnica.

O Laboratório presta serviços ao nível do controlo de qualidade das águas de abastecimento, recreio (piscinas e praias fluviais), lamas, solos, lixiviados e águas residuais aos seus Associados e outros Municípios, bem como a industriais e outros particulares que recorram a estes serviços. Presta ainda serviços no âmbito do controlo de qualidade de géneros alimentícios, alimentos para animais, controlo ambiental e de superfícies.

No caso das águas, incluem-se análises microbiológicas e físico-químicas, que se aplicam a diferentes tipos de matrizes: águas de consumo - redes de distribuição, poços, furos, fontes; água mineral natural e de nascentes; piscinas; balneares; águas de processo; residuais (urbanas, domésticas, industriais).

O Laboratório disponibiliza-se para cooperar com o cliente ou seu representante no sentido de lhe prestar o melhor serviço possível, bem como com os organismos de acreditação e seus representantes, a fim de comprovarem que as exigências de qualidade e outras exigências complementares são satisfeitas, nos seguintes termos: disponibilizando todos os meios para a realização de auditorias; facultando o acesso a toda a documentação relevante; facultando o acesso às instalações relacionadas com a atividade de ensaios acreditados; participando em ensaios interlaboratoriais propostos pelos organismos de acreditação.

A A.Logos possui acreditação para variados parâmetros físico-químicos e microbiológicos em diversas matrizes, como pode ser verificado na secção “Entidades acreditadas” do *site* do Instituto Português de Acreditação (IPAC). Nos parâmetros para os quais a A.Logos possui acreditação, podemos encontrar a “Determinação de Alumínio, Arsénio, Cádmio, Chumbo, Cobre, Crómio, Ferro, Manganês, Níquel e Antimónio por espectrofotometria de absorção atómica com atomização em câmara de grafite” em águas naturais e para consumo [3].

1.2 Objetivos do trabalho de Estágio

O âmbito deste trabalho de Estágio centra-se nas análises físico-químicas de diversos analitos na matriz águas de consumo.

Pretende-se com este trabalho de Estágio implementar uma melhoria no método de quantificação de diversos metais em águas de consumo na empresa A.Logos usando a detecção por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite.

Na A.Logos os analitos quantificados em águas de consumo são: alumínio, arsénio, cádmio, chumbo, cobre, crómio, ferro, manganês, níquel e antimónio. Destes 10 elementos, foram escolhidos 5 para a realização deste estudo, nomeadamente, alumínio, chumbo, cobre, ferro e níquel.

Os objetivos específicos deste trabalho foram definidos entre o orientador da empresa e os orientadores da Universidade de Aveiro e consistem em:

- Compreender a importância e as implicações da contaminação de águas de consumo por metais;
- Conhecer o funcionamento da técnica de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite, e como esta pode ser útil no controlo da qualidade de águas de consumo;
- Contribuir para melhorar o método de quantificação de metais em águas de consumo na A.Logos.

Neste trabalho, a melhoria a implementar será a possibilidade de diminuição do número de leituras efetuada a cada padrão e amostra, reduzindo o tempo e os custos associados a esta análise. Partindo de um número inicial de três leituras por padrão/amostra (procedimento atual na empresa), será efetuado um estudo com base em dados obtidos no laboratório da A.Logos, onde serão avaliados os parâmetros de linearidade da reta de calibração e a exatidão associada ao método para os metais de interesse, fazendo variar entre um e três o número de leituras efetuadas a cada padrão e amostra. Serão efetuados testes estatísticos de forma a verificar se existem diferenças estatísticas significativas entre os métodos, ao variar o número de leituras efetuado para padrões e amostras. Após uma análise dos resultados obtidos para os diferentes metais estudados, será possível verificar se é ou não viável diminuir o número de leituras do método.

Este estudo vai de encontro às necessidades da empresa no sentido em que poderá permitir uma diminuição significativa do tempo e custo de cada análise, caso se verifique a possibilidade de redução do número de leituras por padrão e amostra. Enquadrando-se este

trabalho no âmbito do Mestrado em Biotecnologia Industrial e Ambiental da Universidade de Aveiro, os alunos do mesmo desenvolveram as capacidades necessárias para a realização deste estudo num estágio em ambiente empresarial, ganhando experiência e aplicando as suas competências.

1.3 Águas para consumo Humano

A água é um recurso natural finito, e talvez o mais importante que possuímos. As primeiras formas de vida surgiram no meio aquático, no chamado oceano primordial. Apesar da evolução de milhões de anos, a água continua a ser um nutriente indispensável a todas as formas de vida. O corpo humano e as células vivas são, em geral, essencialmente compostas por água. Cerca de 65 a 75% do corpo humano é composto por água, e uma perda de 15% desse total leva a um estado de desidratação que conduz inevitavelmente à morte. De facto, um ser humano consegue aguentar inúmeros dias sem comer, no entanto, a privação de água durante apenas alguns dias pode ser fatal. Assim, o acesso a uma fonte de água segura é essencial para o estabelecimento de uma comunidade (Cisneros 2014; Tebbutt 1998).

Atualmente, cerca de 80 países no mundo sofrem de escassez de água e mais de um bilhão de pessoas bebem água imprópria para consumo. Doenças provocadas pela ingestão de água imprópria matam 5 a 10 milhões de pessoas por ano, maioritariamente crianças, em todo o mundo. De acordo com as Nações Unidas (ONU), em 2025 cerca de 2,7 biliões de pessoas serão afetadas pela escassez de água destinada ao consumo humano (Cisneros 2014; Tebbutt 1998).

Atualmente as fontes de água doce são sobre exploradas de forma a responder às demandas da indústria, da agricultura e de uma população cada vez maior, tornando a escassez de água potável segura e acessível um grande problema em muitas partes do mundo (Mahajan et al. 2006). Outros problemas graves são o crescimento da população e a migração de populações rurais para as zonas urbanas pois, tradicionalmente, a água para consumo é extraída de águas superficiais ou subterrâneas locais ou importada de bacias hidrográficas mas, com a crescente competição entre as cidades para os recursos hídricos, a importação de água de bacias hidrográficas distantes tornou-se difícil e pode ser necessário implementar tratamentos avançados para reutilização das águas (Pal et al. 2014). Na

sequência de um aumento da consciencialização geral sobre saúde e higiene, há uma crescente preocupação com a segurança e qualidade da água potável (Mahajan et al. 2006).

O direito a água potável e a saneamento foram reconhecidos pelas Nações Unidas como Direitos Humanos (ONU 2010). Considerando que o acesso a água potável segura é essencial para a preservação da saúde humana, o acesso a uma fonte satisfatória, entenda-se adequada, segura e acessível, deste recurso torna-se um direito básico. A Organização Mundial de Saúde (OMS) define água potável segura como a que “não representa nenhum risco significativo para a saúde ao longo da vida de consumo, considerando diferentes sensibilidades que podem ocorrer entre as fases da vida”, sendo esta adequada para todos os fins domésticos normais, incluindo a higiene pessoal (OMS 2011). Considera-se assim que a água potável segura é aquela que se adequa ao consumo humano.

As principais fontes de água para consumo humano são rios, lagos, poços e nascentes naturais, podendo dividir-se em águas superficiais e subterrâneas. Estas fontes encontram-se expostas a um conjunto variado de condições e fatores que podem levar à sua contaminação. O fracasso das medidas de segurança relativas à produção, utilização e eliminação de milhares de compostos orgânicos e inorgânicos tem levado à poluição das fontes de águas destinadas ao consumo humano, colocando em perigo a saúde dos consumidores (Cisneros 2014; Yadav et al. 2013).

1.3.1 Contaminação de águas para consumo Humano

Uma das principais preocupações do século XXI é a atual contaminação das águas destinadas ao consumo humano. A industrialização, que permitiu ao Homem processar e transformar os recursos naturais das mais diversas formas, e que permitiu à população humana prosperar, levou ao aumento da libertação de diferentes contaminantes para os ecossistemas. Como consequência, a qualidade ambiental diminuiu de tal forma que isso se tornou um dos principais motivos de preocupação da população em geral (Sari & Tuzen 2008).

Consideram-se geralmente três tipos de poluição das águas: poluição orgânica, poluição microbiana e poluição inorgânica, sendo que os contaminantes nas águas podem ser microrganismos, desinfetantes, bioprodutos de desinfecção, químicos inorgânicos, químicos orgânicos e radionuclídeos (Perdigão 2011; Gleick 2003; [4])

Os contaminantes químicos presentes nas águas de abastecimento podem provocar graves problemas de saúde – quer sejam de ocorrência natural ou provenham de fontes de poluição antropogénica. Os contaminantes químicos da água são muitas vezes menosprezados pois os efeitos adversos para a saúde provenientes destes são geralmente associados com uma exposição a longo prazo, enquanto os efeitos de outros tipos de contaminantes, como os microbianos, são normalmente imediatos. No entanto, os produtos químicos nas águas de consumo podem causar problemas muito graves (OMS 2007).

De entre os vários contaminantes que afetam os estuários, rios e lagos, e consequentemente fontes de abastecimento de águas destinadas ao consumo humano, destacam-se os metais. As características que os distinguem de outros contaminantes são a sua toxicidade, elevada persistência ambiental, uma vez que não são biodegradáveis e a capacidade de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar (Flouty & Estephane 2012; Gupta & Rastogi 2008; Valls & De Lorenzo 2002; Caussy et al. 2003). Os metais existem naturalmente em baixas concentrações nos ecossistemas aquáticos, no entanto, devido às atividades antropogénicas estas concentrações têm vindo a aumentar, ultrapassando os níveis de toxicidade toleráveis (Kamala-Kannan et al. 2008). Os metais podem entrar na cadeia alimentar e acumular nos tecidos dos seres vivos ao longo dos vários níveis tróficos, onde os seres humanos ocupam o topo. Deste modo, a contaminação por metais representa uma grande ameaça à saúde humana (Volesky 2001). A utilização extensiva de metais ao longo dos últimos séculos, a contaminação ambiental por metais que está atualmente muito difundida, e a exposição a metais e compostos metálicos continua a representar um problema grave para a saúde pública (Caussy et al. 2003).

Alguns dos metais quantificados em águas de consumo na A.Logos ao longo do Estágio fazem parte da “Lista das substâncias perigosas prioritárias” criada pela Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças dos Estados Unidos da América (Agency for Toxic Substances and Disease Registry - ATSDR), que representa as substâncias que apresentam uma potencial ameaça significativa para a saúde humana devido à sua toxicidade e à hipótese ou suspeita de exposição humana às mesmas. Esta lista é composta por 275 substâncias das quais fazem parte os metais seguidamente enumerados (cuja posição na lista é indicada pelo número entre parêntesis): o chumbo (2), níquel (57), o cobre (118) e o alumínio (179) [5].

Estes metais podem causar graves problemas para a saúde humana, destacando-se de seguida alguns desses problemas:

- Quando ingerido em pequenas quantidades, o alumínio entra na corrente sanguínea. A exposição ao alumínio não é, normalmente, perigosa, no entanto pode afetar a saúde quando se encontra em concentrações muito elevadas. Pessoas que acumulam no seu organismo concentrações elevadas deste metal podem desenvolver doenças ósseas e problemas no sistema nervoso (ATSDR 2008).
- A ingestão ou inalação de chumbo pode afetar todos os órgãos e sistemas do corpo humano, sendo o sistema nervoso o mais afetado. A exposição a níveis elevados deste metal danifica de forma relevante os rins e o cérebro e pode, em casos extremos, levar à morte (ATSDR 2007).
- Apesar de todos devermos absorver pequenas concentrações diárias de cobre, a ingestão de níveis elevados deste pode ser perigosa, causando náuseas, vômitos e diarreia. Níveis demasiado elevados danificam os rins e o fígado e podem mesmo levar à morte (ATSDR 2004).
- A exposição a níveis elevados de níquel provoca graves problemas para a saúde humana, sendo o efeito mais comum as reações alérgicas que podem levar ao aparecimento de erupções cutâneas. Pessoas que ingeriram grandes quantidades deste metal podem sofrer danos no estômago, rins, sangue, fígado e sistema imunitário (ATSDR 2005).

O ferro não faz parte da “Lista das substâncias perigosas prioritárias” pelo que não existe informação relativa à sua toxicidade.

Assim, é essencial prevenir e controlar a contaminação das águas por estas substâncias, principalmente as águas destinadas ao consumo humano. É crucial que se estabeleçam medidas normativas relativamente à libertação e controlo de níveis destes contaminantes nas águas de consumo.

1.4 Legislação para águas de consumo humano

Devido aos problemas relativos à contaminação de águas e ingestão das mesmas, torna-se essencial para a saúde humana que seja feito um controlo de qualidade das águas de consumo. Assim, a OMS definiu “Diretrizes para a qualidade da água potável”. Estas

diretrizes têm por objetivo apoiar e promover o desenvolvimento e implementação de estratégias de gestão de riscos, de forma a garantir a segurança da água potável. No documento da OMS é possível encontrar os requisitos mínimos de segurança de forma a garantir a saúde dos consumidores, bem como estabelecer valores de referência para os contaminantes na água e indicadores de qualidade da mesma, que devem ser tidos como ponto de partida para a formulação de legislação para cada país e/ou região (OMS 2011).

Os critérios para a qualidade da água foram desenvolvidos por cientistas/investigadores, e fornecem informação científica básica acerca dos efeitos dos contaminantes da água destinada a uma utilização específica, incluindo os requisitos de qualidade da água de uso individual destinada à proteção e manutenção. Têm por base variáveis que caracterizam a qualidade da água, sendo que no caso dos contaminantes são muitas vezes estabelecidos valores máximos de concentração dos mesmos, garantindo que estes existem em concentrações não nocivas/prejudiciais num meio específico que é usado continuamente para um determinado propósito (OMS/ONU 1997).

A água é uma das áreas exaustivamente regulamentada por legislação ambiental da União Europeia, sendo que a política europeia da água teve o seu início na década de 1970, com a adoção de programas políticos, bem como legislação juridicamente vinculativa. Desde aí, e com o avanço do conhecimento científico e tecnológico, mudanças têm surgido, focando-se esta legislação no cumprimento de parâmetros de qualidade e saúde (Quevauviller & Thompson 2006).

Em 1993, a Comissão Europeia organizou em Bruxelas uma conferência europeia sobre água potável, onde todos os interessados no fornecimento de água potável discutiram a revisão das “Diretivas para a água potável” (Drinking-Water Directives - DWD) então em vigor. Daqui resultou, em 1998, a aprovação e entrada em vigor do atual DWD 98/83/CE que foi transposto para a legislação nacional de cada país (Quevauviller & Thompson 2006). Surge assim a Diretiva 98/83/CE do Conselho, de 3 de Novembro de 1998, relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano e que tem por objetivo, definido no Artigo 1º, “proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes de qualquer contaminação da água destinada ao consumo humano, assegurando a sua salubridade e limpeza” (Parlamento Europeu 1998).

A Diretiva 98/83/CE do Conselho define no seu Artigo 2º, como “água destinada ao consumo humano”:

- a) “Toda a água, no seu estado original ou após tratamento, destinada a ser bebida, a cozinhar, à preparação de alimentos ou para outros fins domésticos, independentemente da sua origem e de ser ou não fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio-cisterna, em garrafas ou outros recipientes”;
- b) “Toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para o fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinados ao consumo humano, exceto se as autoridades nacionais competentes determinarem que a qualidade da água não afeta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada” (Parlamento Europeu 1998).

No artigo 5º da Diretiva 98/83/CE, relativo às Normas de Qualidade, está descrito que os Estados-membros devem fixar valores para a água para consumo humano de acordo com o estabelecido no Anexo I do documento, os quais se encontram apresentados na Tabela 1 para os parâmetros em estudo neste trabalho (Parlamento Europeu 1998)

A nível nacional, a legislação relativa a águas destinadas ao consumo humano encontra-se descrita no Decreto-Lei 306/2007, publicado em Diário da República a 27 de Agosto de 2007, 1º série-Nº164, que coloca em prática na norma jurídica portuguesa a Diretiva nº 98/83/CE. No artigo 6º, relativo às normas de qualidade, diz-se que “a água destinada ao consumo humano deve respeitar os valores paramétricos dos parâmetros constantes das partes I, II e III do Anexo I do presente decreto-lei” (Decreto-Lei 306/2007). Estes valores encontram-se sumarizados na Tabela 1, para os parâmetros em estudo.

De acordo com o artigo 2º deste decreto-lei, o valor paramétrico corresponde ao “valor máximo ou mínimo fixado para cada um dos parâmetros a controlar” (Decreto-Lei 306/2007), sendo que neste caso se considera que os valores paramétricos representam os valores máximos. O valor paramétrico surge como substituto do Valor Máximo Admissível (VMA) e do Valor Máximo Recomendado (VMR) que apareciam nos anteriores documentos normativos. Os valores paramétricos são classificados como parâmetros obrigatórios ou indicadores. Dentro dos valores paramétricos obrigatórios, incluem-se os parâmetros químicos e os parâmetros microbiológicos, para os quais os valores das análises não podem ultrapassar os valores indicados no decreto de lei em vigor.

A legislação portuguesa específica ainda no Anexo IV do Decreto-Lei 306/2007, características de desempenho dos métodos analíticos a utilizar para os parâmetros em estudo, sendo estas apresentadas também na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores paramétricos, veracidade, precisão e limite de deteção para água de consumo para os elementos em estudo neste trabalho (Adaptado da Directiva 98/83/CE e do Decreto-Lei 306/2007).

	DIRECTIVA 98/83/CE	Decreto-Lei 306/2007			
	Valor paramétrico (µg/L)	Valor paramétrico (µg/L)	Veracidade (% do valor paramétrico)	Precisão (% do valor paramétrico)	Limite de deteção (% do valor paramétrico)
Alumínio	200	200	10	10	10
Chumbo	10	10	10	10	10
Cobre	2000	2000	10	10	10
Ferro	200	200	10	10	10
Níquel	20	20	10	10	10

Os valores paramétricos apresentados na Tabela 1 são os valores de concentração máxima que os metais em estudo devem apresentar para poderem ser consideradas águas destinadas ao consumo humano e estarem dentro dos critérios de qualidade estabelecidos pela lei. A partir da Tabela 1 é possível calcular os limites de deteção e quantificação estipulados por lei para os metais, visto que o limite de deteção consiste em 10% do valor paramétrico e o limite de quantificação pode ser definido como 3,3 x limite de deteção, sendo estes apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Limites de deteção e quantificação (em µg/L), estipulados por lei para os metais em estudo (Adaptado do Decreto-Lei 306/2007).

	Decreto-Lei 306/2007		
	Valor paramétrico (µg/L)	Limite de deteção (µg/L)	Limite de quantificação (µg/L)
Alumínio	200	20	66
Chumbo	10	1	3,3
Cobre	2000	200	660
Ferro	200	20	66
Níquel	20	2	6,6

1.5 Espectrofotometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em câmara de grafite para quantificar metais em águas de consumo

Quando é efetuada uma monitorização em tempo real da qualidade da água, é possível responder rapidamente a problemas relativos à sua qualidade e originados por contaminações. Devemos optar por métodos quantitativos que nos permitam detetar contaminantes até ao nível vestigial (partes por bilião - ppb ou valores menores) (Cisneros 2014).

O Decreto-Lei 306/2007 define como método analítico de referência “o método que permite avaliar com fiabilidade o valor de um parâmetro de qualidade da água relativamente ao qual são comparados outros métodos analíticos utilizados”. Para a quantificação dos metais em estudo, o Decreto-Lei 306/2007 não estipula um método analítico de referência, mas sim características de desempenho que garantam que os métodos utilizados pelos laboratórios são capazes de medir concentrações iguais ao valor paramétrico com a veracidade, a precisão e os limites de deteção especificados. Independentemente da sensibilidade do método de análise utilizado, o resultado deve ser expresso usando, no mínimo, o mesmo número de casas decimais que os valores especificados pelo Decreto-Lei 306/2007.

As técnicas espectrofotométricas dependem da emissão ou absorção de radiação eletromagnética. Quando se fornece energia suficiente a um átomo (térmica ou elétrica) o nível de energia dos eletrões aumenta, fazendo com que estes passem de um nível mais baixo de energia (o estado fundamental) para um nível de maior energia (estado excitado). Esta situação é denominada de absorção. Como o estado excitado é pouco estável, o eletrão retorna ao nível mais baixo de energia (uma situação mais estável). Nesta situação ocorre a emissão. Tanto a emissão como a absorção ocorrem a comprimentos de onda, frequência e valores de energia selecionados e são caraterísticos para cada elemento (Harris 2007).

Nas técnicas espectrofotométricas as amostras são vaporizadas a elevadas temperaturas decompondo-se em átomos e a concentração de átomos na amostra vaporizada é medida pela absorção ou emissão de radiação a comprimentos de onda característicos. A sua elevada sensibilidade, a capacidade de distinguir diferentes elementos numa amostra complexa, a possibilidade de realizar análises multielementares e a facilidade com que se podem analisar automaticamente várias amostras tornam a

espectrofotometria uma ferramenta fundamental em química analítica. O analito pode ser quantificado para ordens de grandeza entre partes por milhão (g/L) até partes por trilhão (ng/L) (Harris 2007).

A espectrofotometria é uma técnica sensível e com bons limites de detecção para a quantificação de diversos analitos, tanto em amostras aquosas como em amostras sólidas, sendo uma técnica muito utilizada, apresentando grande simplicidade de operação e baixo custo de capital. A sensibilidade desta técnica obedece aos critérios estipulados por lei para a quantificação de diversos analitos em análise de águas de consumo (Mustra 2009).

Neste trabalho, o método utilizado para a detecção de metais em águas destinadas ao consumo humano foi a espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite. A espectrofotometria de absorção atômica tem por base a atomização da amostra seguida pela análise da quantidade de radiação absorvida pela amostra atomizada (Mustra 2009; Dean 1997).

Os principais componentes de um espectrofotômetro de absorção atômica são a fonte de radiação, a célula de atomização e um detetor que seleciona e deteta a absorção que ocorre a um determinado comprimento de onda. Existem diferentes técnicas de espectrofotometria de absorção atômica. Estas técnicas diferem essencialmente no tipo de célula de atomização: chama e câmara de grafite são os mais comuns. A espectrofotometria de absorção atômica com atomização em chama foi usada durante décadas mas tem vindo a ser substituída por câmaras de grafite devido às vantagens que estes métodos apresentam (Harris 2007). As diferenças entre as técnicas de espectrofotometria de absorção com atomização em chama e em câmara de grafite estão evidenciadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Diferenças entre os métodos de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em chama e em câmara de grafite (Adaptado de Elemental 2001; Magarini 2008; Tyler 1991; Tyler 2014).

	Atomização em chama	Atomização em câmara de grafite
Limite de detecção	Muito bom para a maioria dos elementos	Excelente para a maioria dos elementos
Al	30 ppb	$2,5 \times 10^{-1}$ ppb
Pb	10 ppb	$4,0 \times 10^{-2}$ ppb

	Cu	3 ppb	$7,0 \times 10^{-3}$ ppb
	Fe	6 ppb	$6,0 \times 10^{-2}$ ppb
	Ni	10 ppb	$2,40 \times 10^{-1}$ ppb
Rendimento da análise		10-15 segundos/elemento	3-4 minutos/elemento
Intervalo linear		10^2 - 10^3	10^2
Interferências	Espectrais	Muito poucas	Muito poucas
	Químicas	Várias	Muitas
	Físicas	Algumas	Muito poucas
Volume de amostra		Pequeno	Muito pequeno
Facilidade de utilização		Muito fácil	Moderadamente fácil
Custo de compra		Baixo	Médio/alto
Custos de operação		Baixo	Médio
Custo por análise elementar	Grande volume - poucos elementos	Baixo	Elevado
	Grande volume - muitos elementos	Médio	Elevado

Na atomização em câmara de grafite, a amostra é introduzida num tubo de grafite e é submetida a um aquecimento progressivo, previamente programado através da passagem de uma corrente elétrica, sendo que o programa de temperaturas depende da matriz da amostra e do analito a analisar (Ribeiro 2006; Harris 2007). O processo de atomização em câmara de grafite passa por quatro fases, a diferentes temperaturas, representados na Figura 2. A câmara de grafite é purgada com árgon durante cada etapa para remover os compostos voláteis, exceto na atomização. O caudal de gás é interrompido durante a atomização, para evitar que o analito seja removido para fora da câmara (Harris 2007).

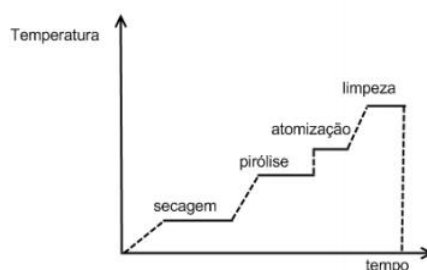


Figura 2 - Fases do processo de atomização em câmara de grafite (Adaptado de Ribeiro 2006).

O principal objetivo da etapa de secagem é a evaporação do solvente. São utilizadas temperaturas da ordem da temperatura do ponto de ebulição do solvente, sendo que o processo de aquecimento deve ocorrer de forma lenta para que a amostra não se espalhe pelo tubo de grafite, o que afetaria a precisão. Para garantir a secagem rápida e suave da amostra faz-se passar pelo tubo de grafite um gás inerte, que neste caso é o árgon (Ribeiro 2006). A fase de pirólise pretende eliminar/diminuir os efeitos da matriz. Nesta etapa deve utilizar-se a maior temperatura possível, sem que haja risco de perda do analito. Faz-se também passar um gás inerte pelo tubo para eliminar vapores dos constituintes da matriz ou fumos. Podem ser aplicados modificadores de matriz de forma a melhorar a sensibilidade da análise (Ribeiro 2006). A atomização constitui a etapa mais importante em termos analíticos. Num curto espaço de tempo a temperatura do tubo é elevada à temperatura de atomização do elemento, sendo que este valor de temperatura varia de elemento para elemento e de acordo com a matriz. Obtém-se então uma nuvem de vapor atômico. Nesta etapa pára o fluxo de gás inerte, pois este leva a uma diminuição do tempo de residência da amostra no tubo e, conseqüentemente, da sensibilidade do método. É neste passo do processo que é medida a absorção de radiação pelo vapor atômico (Ribeiro 2006; Harris 2007). Na etapa final de limpeza aplicam-se temperaturas elevadas e um fluxo de gás inerte de forma a eliminar restos de analito que não sofreram atomização e óxidos difíceis de vaporizar, garantindo a inexistência de efeito de memória e contaminações entre amostras (Ribeiro 2006).

Alguns conceitos relevantes associados à utilização da técnica de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite são:

Modificadores de matriz - Um modificador de matriz é uma substância que se adiciona à amostra para reduzir a perda de analito durante a pirólise, tornando a matriz mais volátil ou o analito menos volátil. Um modificador de matriz que aumenta a temperatura de ebulição do analito permite que se usem maiores temperaturas de pirólise para remover a matriz sem perda de analito (Harris 2007).

Correção de fundo - Absorvância e dispersão de radiação provocadas por outros átomos ou moléculas presentes na amostra pode ser corrigida usando diversos métodos de correção de fundo para distinguir o sinal do analito da absorção, emissão e dispersão ótica da matriz da amostra, da chama ou da câmara de grafite. (Harris 2007; Dean 1997). Na empresa A.Logos usa-se o efeito de Zeeman como correção de fundo. O efeito de Zeeman para

correção do ruído de fundo consiste na aplicação de um forte campo magnético, sendo este ligado e desligado. A amostra e o ruído de fundo são analisados quando o campo está desligado, quando o campo está ligado analisa-se apenas o ruído de fundo. A diferença consiste no sinal corrigido (Harris 2007).

Interferências - Uma interferência é qualquer efeito que afeta o sinal enquanto a concentração do analito se mantém a mesma. As interferências podem ser corrigidas ao remover a fonte que as provoca ou pela preparação de padrões que contenham a mesma matriz que a amostra. Existem vários tipos de interferências que podem afetar o método de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite: interferência espectral, interferências químicas, interferência de ionização e interferências físicas (Harris 2007).

As características do método de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite apresentam vantagens que o tornam adequado à quantificação de metais em águas destinadas ao consumo humano. A sua precisão e a possibilidade de quantificar analitos presentes em níveis vestigiais, como os valores que se esperam obter na quantificação de metais em águas destinadas ao consumo humano, fazem com que este método seja o utilizado na empresa A.Logos.

1.6 Acreditação de laboratórios de ensaios químicos

A definição de acreditação pode ser encontrada no Artigo 2º do Decreto-Lei 306/2007. Define-se por acreditação o “procedimento através do qual o organismo nacional de acreditação reconhece formalmente que uma entidade é competente tecnicamente para efetuar uma determinada função específica de acordo com normas internacionais, europeias ou nacionais” (Decreto-Lei 306/2007).

De acordo com as normas do IPAC (Instituto Português de Acreditação), e em conformidade com o estabelecido pela lei nacional, a “atividade de acreditação consiste na avaliação e reconhecimento da competência técnica de entidades para efetuar atividades específicas de avaliação da conformidade (e.g. ensaios, calibrações, certificações e inspeções) e está sujeita a legislação comunitária”[6].

O organismo nacional responsável pela acreditação é o Instituto Português de Acreditação (IPAC). Este organismo faz parte de infraestruturas europeias e mundiais de acreditação, como a *European Cooperation for Accreditation* (EA), a *International*

Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) e o *International Accreditation Forum (IAF)*, sendo reconhecido internacionalmente [7].

A acreditação tem como objetivo dar às entidades acreditadas confiança e competência mínimas para a execução de certas atividades técnicas, sendo estas reconhecidas a nível internacional.

Tal como anteriormente referido, a análise de alguns parâmetros em águas para consumo humano é obrigatória, entre estes parâmetros encontram-se os metais em estudo. Esta análise e quantificação devem ser feitas por laboratórios acreditados de forma a garantir a confiança e competência dos resultados, o que torna a acreditação tão importante na quantificação de metais em águas para consumo humano.

1.7 Validação de métodos de ensaio

Validação é a confirmação, através de exame e apresentação de evidência objetiva, de que os requisitos específicos relativos a uma dada utilização são cumpridos (Mendes 2004).

Um laboratório tem de executar um processo de validação sempre que pratica métodos internos de ensaio, sendo que o processo de validação deve incluir todos os registos obtidos. A validação deve ser realizada antes de um método interno se tornar rotineiro, depois da sua implementação ou sempre que sejam feitas alterações relevantes ao método (Simas et al. 2005).

De acordo com o Guia Relacre 13 – Validação de métodos químicos de ensaio em análise química, os requisitos mínimos para a validação de métodos internos de ensaio compreendem o estudo e conhecimento dos parâmetros seguintes (RELACRE 2000):

- Gama de trabalho/Linearidade;
- Limiares analíticos (detecção e quantificação);
- Sensibilidade;
- Precisão;
- Veracidade.

Dependendo do tipo de método em causa, escolhem-se os parâmetros mais adequados. Por exemplo, a determinação do limite de quantificação, a precisão, a

veracidade e a linearidade/gama de trabalho são parâmetros adequados à validação de métodos quantitativos, enquanto o limite de detecção, a seletividade/especificidade e a robustez são os pontos importantes na validação de métodos qualitativos (Simas et al. 2005; RELACRE 2000).

O processo de validação envolve o estudo de parâmetros por avaliação direta e por avaliação indireta e deverá, pelo menos, abranger as partes ou alterações cuja validação não tenha sido feita por um organismo reconhecido (RELACRE 2000). A validação permite aos laboratórios provarem que os métodos internos que executam dão origem a resultados credíveis e com a qualidade pretendida.

O método de trabalho deve estar padronizado, para que todas as medições sejam feitas da mesma forma, isto tanto para estudos intra-laboratoriais como inter-laboratoriais. Deve então existir um documento escrito que estabeleça e descreva detalhadamente o procedimento experimental a seguir para a realização de cada medição, incluindo a obtenção e preparação da amostra (ISO 5725-1 1994). Na empresa A.Logos o procedimento correspondente é o Procedimento Técnico PTQ 134 – Metais por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite.

1.7.1 Precisão

Segundo a norma ISO 5725-1 a precisão é um dos parâmetros mais importantes para a garantia de qualidade de um método de ensaio. A precisão tem em consideração o desvio padrão dos resultados da amostra (ISO 5725-1 1994). A norma ISO 5725-6 estabelece como um dos objetivos do estudo da precisão a avaliação da estabilidade dos resultados produzidos por um laboratório ao longo de um período de tempo, tornando-se assim num método de controlo de qualidade dos métodos utilizados, o que vai de encontro às necessidades anteriormente referidas (ISO 5725-6 1994).

Vários fatores podem contribuir para a variação de resultados de um método de medição: o operador, o equipamento usado, a calibração do equipamento, o ambiente (temperatura, humidade, poluição do ar, etc.) e/ou o tempo entre medições. De forma a avaliar a precisão de um método de ensaio, podem efetuar-se ensaios de repetibilidade. Sob condições de repetibilidade os fatores operador, equipamento usado, calibração do equipamento, ambiente (temperatura, humidade, poluição do ar, etc.) e tempo entre medições, são considerados constantes e não contributivos para a variabilidade dos resultados. A repetibilidade é uma condição extrema da precisão descrevendo o mínimo de

variância associada aos resultados. A reprodutibilidade avalia o máximo da variância associada aos resultados e reflete a outra condição extrema de precisão. Em condições de reprodutibilidade são variadas um conjunto de condições, tais como diferentes locais, diferentes operadores, diferentes sistemas de medição e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, recorrendo a um mesmo procedimento ou procedimentos diferentes (ISO 5725-1 1994; VIM 2012). Pode ainda avaliar-se a precisão em condições de precisão intermédia, que consiste na “condição de medição num conjunto de condições com o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo dum período extenso de tempo” (VIM 2012). Ao longo deste trabalho será abordada apenas a repetibilidade uma vez que não são efetuados estudos em condições de reprodutibilidade e de precisão intermédia no laboratório A-Logos. A repetibilidade consiste em avaliar a aproximação entre os resultados de medições sucessivas da mesma amostra, nas condições mais estáveis possíveis: o mesmo laboratório, o mesmo analista, o mesmo equipamento, o mesmo tipo de reagentes, num curto intervalo de tempo.

1.8 Controlo de qualidade de resultados

O Decreto-Lei 306/2007 define como supervisão de laboratório “o conjunto de ações da autoridade competente que permitem verificar a implementação dos métodos analíticos, do sistema de controlo da qualidade analítica, interno e externo, associado a cada método, assim como as condições de funcionamento dos laboratórios de ensaios responsáveis pelas análises do controlo da qualidade da água para consumo humano” (Decreto-Lei 306/2007).

Tendo em conta que qualquer análise química tem um erro associado, é necessário definir e implementar um sistema de gestão de qualidade eficaz que permita aos laboratórios minimizar, e controlar a ocorrência desse erro. Um sistema de gestão de qualidade tem como objetivo garantir e controlar a qualidade dos resultados, e o cumprimento deste objetivo passa por um controlo de qualidade a nível externo e a nível interno (IPAC 2011).

Quando se fala em controlo de qualidade há que ter em conta a exatidão associada ao método que estamos a estudar. A exatidão consiste no grau de concordância entre o resultado de uma análise e o valor aceite como referência. A exatidão tem duas

componentes: a precisão, que quantifica a componente de erros aleatórios da exatidão e tem por definição o grau de concordância entre dois resultados obtidos em condições previamente definidas; e a veracidade, que quantifica a componente dos erros sistemáticos da exatidão e é por definição o grau de concordância entre o valor da média aritmética de uma série de resultados do método e o valor de referência, sendo uma propriedade do método e não do resultado (ISO 5725-1 1994).

1.8.1 Controle de qualidade interno

O controle de qualidade interno tem por objetivo controlar a precisão dos resultados obtidos, de forma a identificar e corrigir os erros aleatórios que possam ocorrer ao longo da análise, devendo compreender todos os parâmetros analisados no laboratório. Entende-se por precisão a avaliação da aproximação entre valores resultantes de ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. É essencial um controle de existência de erros aleatórios, visto que estes podem originar valores incorretos, quer por excesso, quer por defeito (Simas et al. 2005; IPAC 2011; RELACRE 2000).

Os laboratórios devem definir sistemas de controles de qualidade internos para os seus resultados. O controle de qualidade relativo a cada parâmetro em estudo deve estar descrito em procedimentos individuais ou então ser parte de procedimentos de análise, devendo estar estabelecido e descrito a sua periodicidade de análise e os critérios de aceitação dos resultados (Simas et al. 2005; IPAC 2011).

Existem várias ferramentas para o controle de qualidade interno, das quais se destacam:

- Materiais de Referência Internos (MRI) – estes materiais devem ser estáveis a médio/longo prazo. Estes materiais são utilizados para avaliar a precisão dos resultados obtidos (RELACRE 2000).
- Técnicas complementares de controle de qualidade de resultados utilizadas na A.Logos – constituem os requisitos mínimos de controle de qualidade interno para os parâmetros físico-químicos. Estas técnicas passam pela realização de ensaios em branco em paralelo com as amostras, análise de amostras em duplicado, padrões de controle, ensaios de recuperação e amostras fortificadas, uso do método de adição de padrão, comparação de resultados obtidos por diferentes técnicas analíticas e correlação de

resultados de características diferentes da mesma amostra. As técnicas complementares a utilizar são escolhidas tendo em conta a complexidade e dificuldade dos métodos e as fontes de erro que se pretendem controlar (IPAC 2011; RELACRE 2000).

Para efetuar o controlo de qualidade de um método em estudo, são avaliados os seguintes parâmetros: análise de brancos, análise de duplicados, análise de padrões de controlo e análise de ensaios de recuperação. Na empresa A.Logos este controlo de qualidade está descrito no Procedimento de Controlo de Qualidade, o PCQ 134 – Metais por espectrofotometria de absorção atómica em câmara de grafite. O procedimento da A.Logos estabelece o seguinte:

- Realização de análises em duplicado – deve ser efetuado um duplicado de uma das amostras por cada sessão de trabalho, mesmo que apenas se analise uma amostra. A preparação do duplicado consiste na preparação de uma nova amostra que é sujeita a todas as fases do procedimento técnico.
- Padrão de controlo - a cada dez amostras procede-se à análise de duas soluções padrão de controlo que devem ser preparadas a partir de soluções comerciais de lote diferente da utilizada na calibração.
- Ensaio em branco - consiste em água acidificada e deve ser lido pelo menos uma vez por dia após a reta de calibração.
- Ensaio de recuperação – deve ser efetuado um ensaio de recuperação por cada sessão de trabalho. Um ensaio de recuperação consiste numa diluição de 1:2 de uma das amostras, sendo que deve fazer-se uma diluição com água e outra com o padrão de controlo de concentração mais elevada. Deve efetuar-se sempre que se faz a análise de amostras.
- Tratamento estatístico de dados através de cartas de controlo ou através de cartas de verificação - as cartas de controlo permitem um controlo estatístico dos resultados do controlo de qualidade. Devem ser registados em cartas de controlo ou em cartas de verificação os resultados obtidos na análise de materiais de referência internos, brancos, padrões de calibração, repetição de amostras, desvio entre duplicados, recuperação de adições, e/ou dados referentes a parâmetros instrumentais ou de calibração, como o declive e o coeficiente de correlação das curvas (IPAC 2011).

1.8.2 Controlo de qualidade externo

Os laboratórios devem efetuar controlo de qualidade externo de forma a garantir a veracidade dos resultados obtidos, detetando e corrigindo eventuais erros sistemáticos. A veracidade consiste na concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceite como convencionalmente verdadeiro, sendo que a diferença existente entre os dois valores consiste no erro da análise. Os erros sistemáticos são erros que ocorrem continuamente e que são difíceis de identificar recorrendo apenas ao controlo de qualidade interno, podendo originar resultados incorretos, por defeito ou por excesso. (Simas et al. 2005; IPAC 2011).

De forma a assegurar o controlo de qualidade externo, os laboratórios devem:

- Usar Materiais de Referência Certificados (MRC) ou padrões equivalentes;
- Participar em ensaios interlaboratoriais apropriados, nomeadamente de aptidão.

Ensaaios interlaboratoriais são ensaios realizados por diferentes laboratórios para a mesma amostra ou amostras semelhantes, em condições previamente definidas (RELACRE 2000).

Na empresa A.Logos o plano de participação em ensaios interlaboratoriais é efetuado para ciclos de três anos. No caso dos ensaios de aptidão para a análise de águas para consumo humano, método em estudo, consiste na participação anual nos ensaios interlaboratoriais estabelecidos pela entidade RELACRE.

Ambos os critérios permitem a comparabilidade de resultados, devendo estar definida a periodicidade de utilização, bem como os critérios de aceitação para os resultados obtidos para cada metal em estudo. Caso existam desempenhos não satisfatórios, o laboratório deve promover uma investigação das causas e aplicar as respetivas medidas corretivas.

Outro parâmetro essencial para o controlo de qualidade de resultados é o cálculo de incertezas. Cabe à Direção do laboratório o cumprimento integral deste procedimento e o respetivo cálculo de incertezas. Na A.Logos existe um Procedimento Auxiliar PA Q03 – Metodologia Geral de Cálculo de Incertezas. As incertezas expandidas associadas ao método de espectrofotometria de absorção atómica calculadas na A.Logos são os seguintes para os metais em estudo: 26 para o alumínio, 18 para o chumbo, 19 para o cobre, 20 para o ferro e 23 para o níquel, sendo que estes estão expressos em percentagem.

Cada resultado obtido para cada um dos metais tem sempre uma incerteza associada que deriva da junção dos fatores determinados para a precisão e para a veracidade do método em estudo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes e equipamentos usados no Estágio

Ao longo deste trabalho usaram-se reagentes obtidos diretamente de fornecedores comerciais, sem se proceder a qualquer modificação adicional.

A lista de reagentes e equipamentos utilizados ao longo deste trabalho pode ser encontrada na Tabela 4.

Tabela 4 - Lista de reagentes e equipamentos usados no Estágio na A.Logos.

Reagentes	Fornecedor	Aplicação
Ácido nítrico a 65%	Panreac	Lavagem de material, acidificação de amostras e soluções padrão
Solução padrão de 1000 mg/L de Alumínio para AA	Panreac Scharlau	Preparação de soluções padrão
Solução padrão de 1000 mg/L de Chumbo para AA	Panreac Scharlau	Preparação de soluções padrão
Solução padrão de 1000 mg/L de Cobre para AA	Panreac Scharlau	Preparação de soluções padrão
Solução padrão de 1000 mg/L de Ferro para AA	Panreac	Preparação de soluções padrão
Solução padrão de 1000 mg/L de Níquel para AA	Panreac Scharlau	Preparação de soluções padrão
Solução comercial de nitrato de magnésio 10 g/L	Merck	Modificador de matriz para Alumínio, Cobre e Ferro
Solução comercial de paládio 10 g/L	Merck	Modificador de matriz para Chumbo e Cobre
Equipamento	Marca	Modelo
Espectrofotometro de absorção atômica com câmara de grafite	UNICAM	AA Spectrometer Mseries Solaar
Lâmpadas de cátodo oco (Alumínio,	Thermo	N.A.

chumbo, cobre, ferro e níquel)			
Atomizador de grafite	Thermo	GF95	N.A.
Amostrador automático		Thermo	FS95
Tubos de grafite		Massen	N.A.
Micropipeta 10-100 µL		Ependorf	N.A.
Micropipeta 100-1000 µL		Ependorf	N.A.
Macropipeta 1000-10000 µL		Discovery	Comfort
Destilador de água		Elga	Prima 120
Sistema de água ultrapura		Elga	PURELABultra
N.A. – não aplicável			

2.2 Lavagem do material

Neste trabalho foi utilizado material volumétrico e todo o material foi lavado com ácido nítrico, tendo sido preparada uma solução de concentração 1:4 a partir do ácido concentrado e onde se manteve o material imerso durante 12 horas. Este foi seguidamente lavado com água ultrapura. Foram utilizadas micropipetas para efetuar as diluições.

2.3 Preparação de soluções padrão

As soluções padrão são preparadas a partir das soluções padrão comerciais anteriormente indicadas, de qualidade analítica reconhecida, recorrendo à utilização de água ultrapura. Para cada um dos analitos preparam-se soluções intermédias (Tabela 5) a partir da solução padrão comercial de 1000 mg/L. Todas as soluções preparadas são acidificadas com ácido nítrico concentrado até pH<2.

Tabela 5 - Concentrações e volumes a medir na preparação das soluções padrão de concentração intermédia.

	[Solução intermédia] (µg/L)	V solução padrão (µL)	V de solução intermédia (mL)	V HNO ₃ (µL)
Alumínio	10,0	500,0	50,0	250
Chumbo	1,00	50,0	50,0	250
Cobre	1,00	50,0	50,0	250
Ferro	10,0	500	50,0	250
Níquel	1,00	50,0	50,0	250

Na A.Logos, considera-se que as soluções intermédias têm validade de um mês e estas são guardadas em frascos de plástico. Para cada um dos analitos devem ser preparadas duas soluções intermédias de igual concentração, a partir de soluções padrão

comerciais diferentes, uma destinada à posterior preparação de soluções de calibração e outra destinada à preparação de padrões de controlo.

As soluções de calibração são preparadas por diluição e acidificação das soluções intermédias (Tabela 6).

Tabela 6 - Concentrações e volumes a medir na preparação das soluções padrão de calibração.

	[Solução de calibração] ($\mu\text{g/L}$)	V solução de calibração (mL)	V de solução intermédia (μL)	V HNO_3 (μL)
Alumínio	100	50,0	500	250
Chumbo	10,0	50,0	500	250
Cobre	10,0	50,0	500	250
Ferro	100	50,0	500	250
Níquel	10,0	50,0	500	250

As restantes soluções padrão da curva de calibração (pelo menos 5 soluções padrão de calibração de diferentes concentrações cobrindo toda a gama de trabalho) são obtidas por diluição da solução de calibração.

Tendo em consideração o controlo de qualidade imposto pelo laboratório A.Logos, a preparação e a leitura das soluções padrão da curva de calibração devem ser efetuadas sempre que se realiza uma análise e só se deve aceitar a curva de calibração se o coeficiente de correlação for superior a 0,995.

Os padrões de controlo (Tabela 7) devem ser preparados a partir de soluções intermédias independentes das utilizadas para a preparação das soluções de calibração, sendo no entanto preparados da mesma forma.

Tabela 7 - Concentrações e volumes a medir na preparação das soluções padrão de controlo.

	[Padrão de controlo] ($\mu\text{g/L}$)	V padrão de controlo (mL)	V solução intermédia (μL)	V HNO_3 (μL)
Alumínio	10,0	50,0	50,0	250
	50,0	50,0	250	
Chumbo	2,00	50,0	100	250
	5,00	50,0	250	
Cobre	2,00	50,0	100	250
	5,00	50,0	250	
Ferro	20,0	50,0	100	250
	50,0	50,0	250	
Níquel	1,00	50,0	50,0	250

5,00	50,0	200
------	------	-----

2.4 Preparação de amostras

A amostragem de água de consumo é realizada pela técnica de colheitas da empresa, sendo a amostragem um parâmetro acreditado pelo IPAC na A.Logos. Estas amostras podem ser provenientes de diversas origens, nomeadamente: poços, furos, rede de abastecimento e também águas comercializadas.

Assim que chegam ao laboratório as amostras são acidificadas com ácido nítrico até $\text{pH} < 2$, à semelhança das soluções padrão, sendo depois armazenadas a 4°C até ao momento de análise, de forma a evitar a sua deterioração.

2.5 Controlo de qualidade de resultados adotado

Durante a realização deste Estágio foi adotado o controlo de qualidade implementado na A.Logos para a quantificação de metais em águas de consumo. Efetuaram-se leitura de brancos de 10 em 10 amostras, com a mesma periodicidade foram analisados 2 padrões de controlo (padrão de menor concentração e padrão de concentração intermédia da curva de calibração), por cada sessão de trabalho foi efetuada a leitura de uma amostra em duplicado, cujo limite de aceitação foi de 10% para valores superiores ao limite de quantificação (LQ) e 15% para valores próximos do LQ, e realizado um ensaio de recuperação, cuja taxa de recuperação tem de estar entre 80 e 120%.

Relativamente ao controlo de qualidade externo aplicado à matriz águas de consumo, a A.Logos participa em ensaios interlaboratoriais anuais promovidos pela entidade RELACRE. O último ensaio interlaboratorial em que a A.Logos participou decorreu no ano de 2014, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 8:

Tabela 8 – Resultados de *z-score* obtidos pela A.Logos na participação no ensaio interlaboratorial organizado pela RELACRE em 2014.

Metal	<i>z-score</i>
Al	-0,8
Pb	0,0
Cu	1,0
Fe	0,1
Ni	1,0

2.6 Condições de operação do equipamento

Para quantificar metais por espectrofotometria de absorção atômica em câmara de grafite, as soluções padrão de controlo e as amostras são colocadas do prato do amostrador automático sendo analisadas nas mesmas condições que as soluções de calibração.

No método usado, o *software* permite programar o modo como a atomização ocorre, bem como a quantidade de amostra que é injetada. O programa para a análise de metais em câmara de grafite divide-se, tal como foi anteriormente mencionado, em quatro etapas: secagem, pirólise, atomização e limpeza. Para cada uma destas etapas o programa varia consoante o metal a analisar. Neste Estágio foi efetuada a programação do equipamento de acordo com as tabelas 9 e 10.

Tabela 9 – Parâmetros de funcionamento do equipamento.

Elemento	V amostra (µL)	V modificador de matriz (µL)	I Lâmpada (%)	λ (nm)
Alumínio	15	5	80	308,2
Chumbo	20	5	75	283,3
Cobre	15	5	80	324,8
Ferro	15	5	75	372,0
Níquel	20	5	80	232

Tabela 10 – Programa de temperaturas do forno de grafite.

	Secagem 1			Secagem 2		Pirólise			Atomização		Limpeza	
	T (°C)	Tempo (s)	Rampa (°C/s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	Rampa (°C/s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)
Al	100	60	10	-	-	1500	20	150	2600	3	2700	3
Pb	95	40	10	120	10	800	30	150	2500	3	2700	3
Cu	95	40	10	120	10	950	20	150	2100	3	2500	3
Fe	95	40	10	120	10	1100	30	150	2100	3	2600	3
Ni	95	50	10	120	10	1100	20	150	2700	3	2800	3

Foram adicionados às soluções de cada metal modificadores de matriz: Para os metais alumínio, ferro e níquel adicionou-se nitrato de magnésio (concentração 1:20). No caso do chumbo adicionou-se paládio (concentração 1:20). Para o cobre foram adicionados ambos os modificadores nas concentrações anteriormente referidas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos resultados foi feita tendo em consideração as seguintes definições:

- Média dos resultados - soma das variáveis de uma amostra dividida pelo número de termos na soma:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i$$

Para uma amostra de tamanho n (ISO 3534-1 2006).

- Variância da amostra – soma dos desvios quadrados das variáveis de uma amostra a partir da sua média, dividido pelo número de termos menos um:

$$S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2$$

Para uma amostra de tamanho n e de média \bar{X} (ISO 3534-1 2006).

- Desvio padrão da amostra – raiz quadrada não negativa da variância da amostra (ISO 3534-1 2006):

$$\sigma = \sqrt{S^2}$$

Para a validação do método de análise de metais por espectrofotometria de absorção atômica em câmara de grafite, foram estudados diversos parâmetros, tais como: curva de calibração, que engloba o estudo do coeficiente de correlação, declive e ordenada na origem, limites de detecção e quantificação, análise de brancos, estudos de repetibilidade, análise de amostras em duplicado, ensaios de recuperação dos metais de interesse e avaliação do erro relativo na análise de padrões de controlo. Estes parâmetros foram estudados para os metais de interesse, e foi avaliado e comparado o desempenho do método para a análise efetuada com três e com uma leitura dos padrões e das amostras.

3.1 Curvas de calibração

O estudo da influência da diminuição do número de leituras foi efetuado para cinco metais: alumínio, chumbo, cobre, ferro e níquel. No texto seguinte, serão, em alguns casos,

apresentados os resultados obtidos para o elemento cobre, sendo que os resultados correspondentes aos restantes metais se encontram em anexo.

Para o cobre foram efetuadas 12 curvas de calibração, em 12 dias independentes. Para a realização da curva de calibração foram preparadas 5 soluções padrão de calibração, a partir da solução padrão comercial, cuja concentração variou entre 2,00 e 10,0 µg/L. Nas figuras 3 e 4 encontram-se exemplos de duas das curvas de calibração obtidas para o cobre, para 3 e 1 leituras, respetivamente.

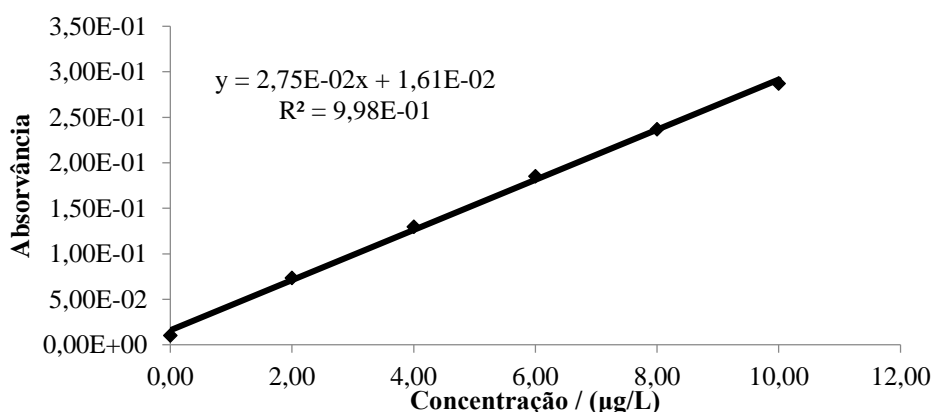


Figura 3 - Curva de calibração do cobre obtida num dos dias de análise para 3 leituras.

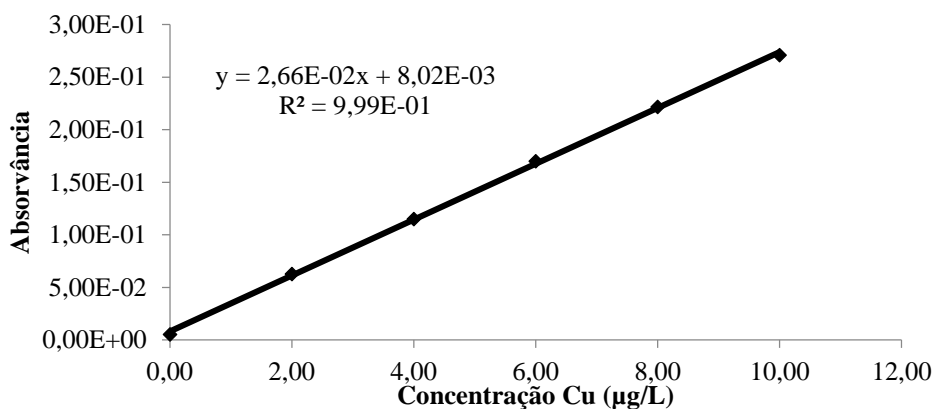


Figura 4 - Curva de calibração do cobre obtida num dos dias de análise para 1 leitura.

Na Tabela 11 encontram-se os parâmetros estudados para as diversas curvas de calibração (coeficiente de correlação, declive e ordenada na origem) obtidos na quantificação do cobre com 3 e 1 leituras.

Tabela 11 - Parâmetros das curvas de calibração para o cobre.

Coeficiente de correlação		Declive		Ordenada na origem	
3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura
0,9992	0,9997	2,75E-02	2,66E-02	1,61E-02	8,02E-03
0,9995	0,9998	2,62E-02	2,61E-02	6,80E-03	1,37E-02
0,9992	0,9992	2,58E-02	2,53E-02	1,14E-02	6,65E-03
0,9997	0,9984	2,34E-02	2,68E-02	8,86E-03	8,94E-03
0,9997	0,9993	1,59E-02	2,70E-02	9,64E-03	1,66E-02
0,9984	0,9994	2,30E-02	2,76E-02	1,03E-02	1,16E-02
0,9990	0,9993	2,62E-02	2,77E-02	8,81E-03	1,49E-02
0,9994	0,9985	2,61E-02	2,32E-02	1,36E-02	1,03E-02
0,9992	0,9994	2,51E-02	1,59E-02	6,41E-03	1,01E-02
0,9988	0,9997	2,69E-02	2,36E-02	8,78E-03	7,98E-03
0,9990	0,9994	2,70E-02	2,59E-02	1,69E-02	1,16E-02
0,9991	0,9993	2,76E-02	2,63E-02	1,09E-02	7,09E-03

As tabelas referentes aos parâmetros da curva de calibração para os restantes metais em estudo são apresentadas no Anexo 1.

Para avaliar se existem diferenças significativas no valor do declive e da ordenada na origem, quando se reduz o número de leituras efetuadas aos padrões e às amostras, foram feitos testes estatísticos de comparação de médias. Avaliou-se inicialmente se as variâncias dos valores obtidos para o declive e para a ordenada na origem para 3 e 1 leituras eram estatisticamente diferentes. Para isso realizou-se um teste F, que utiliza a razão das variâncias associadas às duas amostras, ou seja, a razão dos quadrados dos desvios padrão:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

Este teste destina-se a provar a hipótese:

$$H_0: s_1^2 = s_2^2$$

sendo que F tem que ser sempre maior ou igual que 1.

Se a hipótese nula for verdadeira, então o valor de F calculado é inferior ao valor de F tabelado para um grau de confiança de 99% e n-1 graus de liberdade, ou seja, a razão entre as variâncias deve ser próxima de 1 e podemos inferir que as variâncias não são estatisticamente diferentes. Se o valor de F calculado for superior ao valor de F tabelado para um nível de confiança de 99% e n-1 graus de liberdade, então a hipótese nula é

rejeitada, o que implica que as variâncias são estatisticamente diferentes.(Miller & Miller 2010).

Depois de realizados os testes de F para os parâmetros declive e ordenada na origem para os metais em estudo, verificou-se que, para ambos os parâmetros e para todos os metais, o valor de F calculado é inferior ao valor de F tabelado para um nível de confiança de 99% e para n-1 graus de liberdade, pelo que podemos inferir que estatisticamente não há diferenças significativas entre as variâncias do declive e da ordenada na origem para 1 e 3 leituras.

Após a verificação da existência ou não de diferenças significativas entre as variâncias, efetuam-se testes de significância para comparação de duas médias experimentais, comparando a média do declive e da ordenada na origem para uma leitura com a média dos mesmos parâmetros obtidos para três leituras, considerando a análise efetuada com 3 leituras como referência. Usando o teste de *t-student*, considera-se a hipótese nula a que nos diz que a média dos resultados obtidos através do método 1 (método de análise efetuado com três leituras) não é estatisticamente diferente da média obtida no método 2 (método de análise efetuado com uma leitura) (Miller & Miller 2010):

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

É preciso testar se $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ é significativamente diferente de zero, recorrendo ao teste *t-student* para comparar $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ com zero.

Calcula-se a variância associada ao teste, s^2 :

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

Em que n_1 e n_2 correspondem ao tamanho das amostras 1 e 2, respetivamente, e s_1^2 e s_2^2 correspondem às variâncias associadas às amostras 1 e 2, respetivamente.

Para decidir se a diferença entre as duas médias, \bar{x}_1 e \bar{x}_2 é significativa, isto é, para testar a hipótese nula, calcula-se o *t* estatístico a partir de:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Em que *s* corresponde ao desvio padrão associado ao teste é:

$$s = \sqrt{s^2}.$$

E *t* tem $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade.

Se o $t_{calculado}$ for menor que o $t_{tabelado}$, para um intervalo de confiança de 95% com $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade, então a diferença estatística entre as médias não é significativamente diferente. Se o $t_{calculado}$ for maior que o $t_{tabelado}$, para um intervalo de confiança de 95% com $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade, então a diferença estatística entre as médias é significativamente diferente.

Na Tabela 12 estão apresentados os testes de comparação de médias para os metais em estudo, para os parâmetros declive e ordenada na origem.

Tabela 12 - Teste t para comparação de médias para o declive e ordenada na origem das curvas de calibração dos metais em estudo.

Metal	Declive		Ordenada na origem	
	$t_{calculado}$	$t_{tabelado}$	$t_{calculado}$	$t_{tabelado}$
Al	0,78	2,12	0,46	2,12
Pb	0,94	2,05	0,98	2,05
Cu	0,93	2,07	0,95	2,07
Fe	0,83	2,06	0,89	2,06
Ni	0,96	2,09	0,89	2,09

Como o valor de t calculado para um nível de confiança de 95% e $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade é inferior ao valor de t tabelado em todos os casos, podemos inferir que não existem diferenças estatísticas significativas no declive e na ordenada na origem da curva de calibração quando se fazem 1 ou 3 leituras para os metais em estudo.

Quanto aos valores do coeficiente de correlação obtidos para as curvas de calibração dos metais, para o chumbo, o cobre, o ferro e o níquel não ocorreram valores de coeficiente de correlação abaixo de 0,995 (valor mínimo estabelecido pela A.Logos), tanto para 3 como para 1 leituras, tal como se pode verificar na Tabela 11 e nas Tabelas 2 a 4 do Anexo 1. No caso do alumínio verificou-se a ocorrência de um valor de coeficiente de correlação abaixo do valor mínimo estipulado pelo laboratório quando se fez apenas 1 leitura (Tabela 1 do Anexo 1); um valor de coeficiente de correlação abaixo de 0,995 pode indicar que a linearidade e, conseqüentemente, a veracidade e a precisão do método poderão ser afetadas.

3.2 Estimativa dos limites de deteção e quantificação

A estimativa dos limites de deteção e quantificação foi feita através de duas abordagens diferentes. Numa primeira abordagem estabeleceram-se os limites de deteção e

quantificação como sendo o valor do padrão de menor concentração da curva de calibração (metodologia utilizada na empresa A.Logos). Numa segunda abordagem estimaram-se os limites de detecção e quantificação a partir dos parâmetros da curva de calibração.

3.2.1 Limites de detecção e quantificação com base no padrão de menor concentração

Na empresa A.Logos foi estabelecido que o valor do limite de quantificação corresponde ao padrão de calibração de menor concentração. Assim, no caso do cobre, o limite de quantificação é de 2,0 µg/L. A partir deste valor do limite de quantificação calcula-se o valor do limite de detecção, que corresponde a 1/3 do valor do limite de quantificação:

$$LD = \frac{LQ}{3,3}$$

Assim, para o cobre:

$$LD = \frac{2,0}{3,3} = 0,61$$

Na tabela 13, estão apresentados os valores para os limites de detecção e quantificação para os restantes metais estudados:

Tabela 13 – Limite de detecção e quantificação para os metais em estudo.

	LD (µg/L)	LQ (µg/L)
Alumínio	3,0	10,0
Chumbo	0,61	2,0
Cobre	0,61	2,0
Ferro	6,1	20,0
Níquel	0,30	1,0

Para os limites de detecção e quantificação, a legislação vigente, Decreto-Lei 306/2007 de 27 de agosto, estabelece valores para todos os metais em estudo, como pode ser observado na Tabela 2. Os limites de detecção e quantificação estabelecidos pela empresa A.Logos para o método de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite obedecem, para todos os metais contemplados neste estudo, aos valores estipulados pelo Decreto-Lei 306/2007 de 27 de agosto.

3.2.2 Limites de detecção e quantificação estimados a partir dos parâmetros da curva de calibração

Os limites de detecção e quantificação também foram calculados a partir dos parâmetros da curva de calibração, nomeadamente através do declive, b , e do desvio padrão residual associado a cada curva de calibração, $S_{y/x}$. A estimativa dos limites de detecção e quantificação foi efetuada com base nas seguintes equações:

$$LD = 3 * \frac{S_{y/x}}{b} \quad \text{e} \quad LQ = 10 * \frac{S_{y/x}}{b}.$$

Na tabela 14 são apresentados os valores obtidos a partir dos parâmetros da curva de calibração para os limites de detecção e quantificação para 3 e 1 leituras, para os metais em estudo, e estes são comparados com os valores dos limites de detecção e quantificação usados na empresa A.Logos.

Tabela 14 – Limites de detecção e quantificação obtidos a partir dos parâmetros curva da calibração e valores do LD e LQ usados na A.Logos.

			Al	Pb	Cu	Fe	Ni
LD (µg/L)	3 leituras	C.C.	6,3	0,25	0,50	5,1	0,34
		A.Logos	3,0	0,61	0,61	6,1	0,30
	1 leitura	C.C.	7,7	0,39	0,46	5,6	0,54
		A.Logos	3,0	0,61	0,61	6,1	0,33
LQ (µg/L)	3 leituras	C.C.	20,8	0,84	1,7	16,9	1,1
		A.Logos	10,0	2,0	2,0	20,0	1,0
	1 leitura	C.C.	25,8	1,3	1,5	18,8	1,8
		A.Logos	10,0	2,0	2,0	20,0	1,0

C.C. – curva de calibração

Os valores estimados do limite de detecção e quantificação a partir dos parâmetros da curva de calibração (Tabela 14), permitem constatar que, para todos os metais em estudo para 3 e 1 leituras, os limites se encontram-se abaixo dos valores estipulados pela legislação, sendo que para o chumbo, para o cobre e para o ferro os valores obtidos encontram-se abaixo dos valores estabelecidos pelo laboratório. Para o cobre é possível ainda verificar que os valores obtidos para o LD e o LQ quando se utiliza apenas uma leitura são inferiores aos que resultam de uma análise com três leituras. A Tabela 14 permite observar que o alumínio e o níquel apresentam valores superiores aos valores estipulados pela A.Logos para o LQ e o LD embora estes valores estimados sejam inferiores aos valores estabelecido no Decreto-Lei 306/2007 de 27 de agosto,

independentemente do número de leituras efetuadas. O aumento do valor do limite de detecção e quantificação poderá indicar um problema no método, nomeadamente tal poderá resultar de contaminações do padrão de concentração 0,0 µg/L (branco) da curva de calibração. De forma a resolver esta situação, o laboratório deve melhorar as práticas de descontaminação do material.

Na estimativa do valor do limite de detecção e de quantificação através dos parâmetros da curva de calibração, podemos observar que, para os metais em estudo, exceto para o cobre, os valores do limite de detecção e de quantificação calculados com base nos parâmetros da reta quando apenas se faz 1 leitura são superiores aos obtidos com 3 leituras (Tabela 14).

3.3 Análise de brancos

Para verificar se a análise de brancos estava de acordo com o controlo de qualidade implementado na empresa A.Logos, foram elaboradas cartas de aceitação de brancos para todos os metais em estudo. Nas Figuras 5 e 6 são apresentadas as cartas de verificação de brancos para o metal cobre, para a análise efetuada com 3 e 1 leitura, respetivamente.

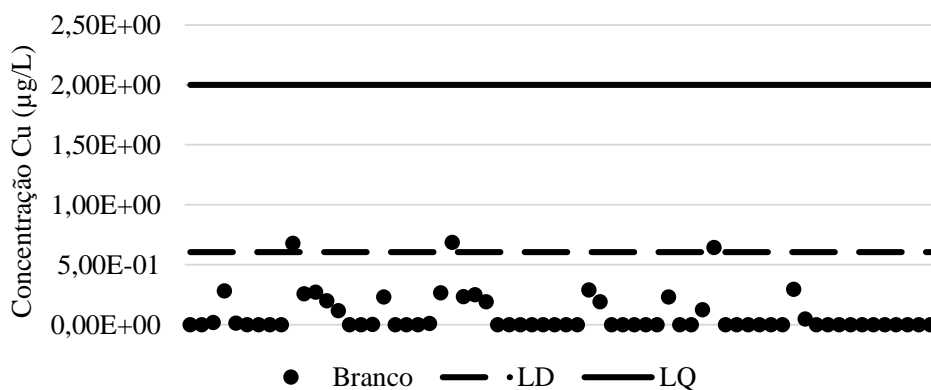


Figura 5 - Carta de verificação de brancos do cobre para 3 leituras.

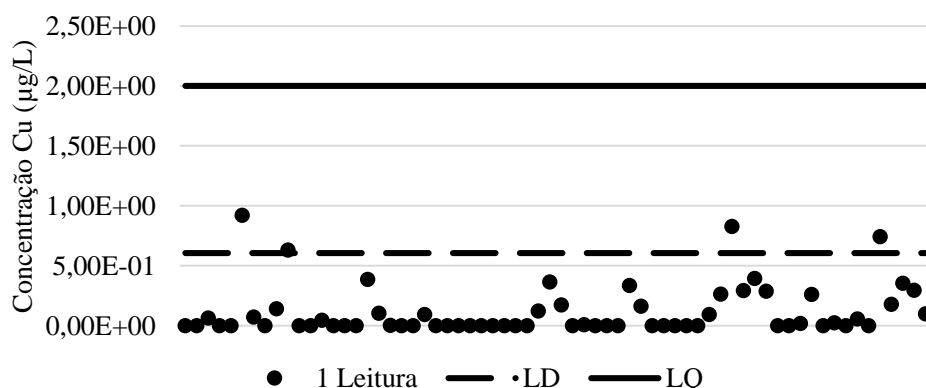


Figura 6 - Carta de verificação de brancos do cobre para 1 leitura.

O critério de aceitação estipulado pela A-Logos para a análise de brancos é que o valor do branco deve ser inferior a 1/3 do LQ. Pela análise das Figuras 5 e 6, podemos observar que existem, nas cartas de verificação de brancos para o cobre, valores superiores ao critério de aceitação. Tal acontece tanto para 3 como para 1 leituras, podendo decorrer de contaminações do branco ocorridas ao longo da preparação ou da análise. No Anexo 2 são apresentadas as cartas de verificação de brancos para os restantes metais em estudo. De acordo com as figuras 1 e 2, e 5 a 8 do Anexo 2 podemos observar que no caso do cobre, alumínio, ferro e níquel existem valores acima do critério de aceitação. No caso do alumínio e do níquel existem mesmo valores muito próximos ou superiores ao limite de quantificação (tal ocorre para o alumínio quando se faz apenas 1 leitura e para o níquel independentemente de se fazerem 3 ou 1 leituras), sendo resultado de possíveis contaminações. Relativamente ao chumbo é possível verificar pelas Figuras 3 e 4 do Anexo 2 que todos os valores obedecem ao critério de aceitação estabelecido pelo laboratório.

Sugere-se que o laboratório melhore as práticas de descontaminação do material para ultrapassar as situações em que o valor do branco não cumpre com os critérios de aceitação estabelecidos.

3.4 Avaliação da repetibilidade

Para avaliar a repetibilidade do método de análise de águas para consumo humano por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite, fez-se

uma série de medições ($n \geq 10$) de uma mesma amostra ou padrão, sob as mesmas condições de análise e num curto espaço de tempo (RELACRE 2000).

A repetibilidade pode ser quantitativamente expressa em termos das características de dispersão dos resultados (Mendes 2004):

$$s_{x0} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}}$$

Em que s_{x0} é o desvio padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados, x_i é o valor de concentração obtido para cada uma das leituras da amostra, \bar{x} é o valor médio de concentração obtido após as várias leituras e n é o número de leituras efetuado.

O coeficiente de variação da repetibilidade (CV), calcula-se da seguinte forma:

$$CV_{x0} = \frac{s_{x0}}{\bar{x}} \times 100(\%),$$

O desvio padrão da repetibilidade corresponde ao desvio padrão dos resultados obtidos em condições de repetibilidade, enquanto o limite de repetibilidade, r , é o valor ao qual a diferença entre resultados consecutivos do teste deve ser igual ou menor com uma probabilidade de 95%, quando obtidos em condições de repetibilidade (ISO 5725-1 1994). O limite de repetibilidade permite calcular as diferenças existentes entre dois (ou mais) resultados obtidos, e compará-los. O limite de repetibilidade para comparação entre dois ou mais resultados calcula-se de acordo com a seguinte expressão (RELACRE 2000; ISO 3534-1 2006):

$$r = 2.8x\sqrt{S_{x0}^2}$$

Para realizar o estudo de repetibilidade, foram lidas pelo menos 3 amostras por cada metal. Nestas amostras efetuaram-se 10 leituras consecutivas, onde devem ser asseguradas as condições de repetibilidade, sendo que este estudo foi efetuado para 3 e 1 leituras. Na Tabela 16 são apresentados os resultados para repetibilidade dos diversos metais.

Tabela 15 - Repetibilidade e respetivo coeficiente de variação para os metais em estudo com 3 e 1 leituras.

Amostra		1		2		3		4		5	
Leituras		3	1	3	1	3	1	3	1	3	1
Al	r	2,2	3,3	6,6	5,7	6,2	9,0	1,9	2,1	-	-
	CV(%)	8	12	2	2	4	6	3	3	-	-

Pb	r	0,60	0,66	0,12	0,14	0,34	0,56	0,22	0,29	0,35	0,49
	CV(%)	7	7	2	3	1	2	2	2	4	6
Cu	r	0,20	0,51	0,48	0,53	0,14	0,14	0,26	0,42	-	-
	CV(%)	2	5	2	2	1	1	4	6	-	-
Fe	r	2,1	2,1	3,9	4,5	3,7	6,2	3,6	3,8	1,6	2,2
	CV(%)	4	4	1	2	3	4	5	5	2	2
Ni	r	1,7	1,9	0,42	0,63	0,18	0,31	-	-	-	-
	CV(%)	12	13	2	2	1	2	-	-	-	-

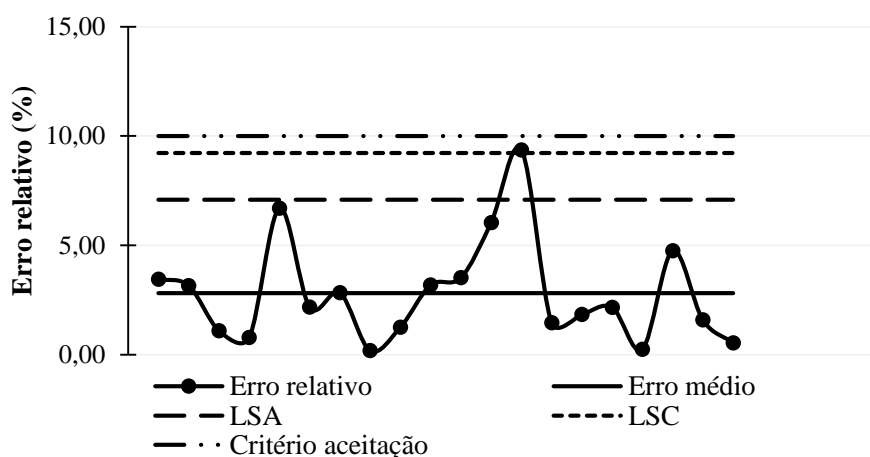
Podemos observar na tabela 16 que para o alumínio, o valor máximo do coeficiente de variação de repetibilidade foi 12% para 1 leitura e de 8% para 3 leituras. Relativamente ao chumbo, o valor máximo do coeficiente de variação de repetibilidade foi 7% para 3 e 1 leituras. Para o cobre o valor máximo do coeficiente de variação foi 6% para 1 leitura e de 4% para 3 leituras. Para o ferro o valor máximo do coeficiente de variação de repetibilidade foi de 5% para a análise efetuada com 3 e 1 leituras. Para o níquel o valor máximo do coeficiente de variação de repetibilidade obtido foi 13% para a análise efetuada com 1 leitura e 12% para a análise efetuada com 3 leituras.

Da análise da Tabela 16 pode dizer-se que para o alumínio e para o níquel se verificam alterações no coeficiente de variação de repetibilidade quando se faz a análise com 1 leitura em vez de 3 leituras. Nos estudos de repetibilidade das restantes amostras realizados para os metais, a variabilidade do coeficiente de variação de repetibilidade é aceite como estando dentro dos critérios definidos pela empresa A.Logos, quando se diminuiu o número de leituras. Para o alumínio, cobre e níquel o valor máximo do coeficiente de variação obtido para a análise efetuada com 3 e 1 leituras é superior no segundo caso, indicando que a diminuição do número de leituras pode afetar a repetibilidade do método para estes metais, embora os valores obtidos estejam dentro dos critérios de aceitação do controlo de qualidade da empresa A.Logos. Relativamente ao estudo de repetibilidade efetuado para o chumbo e ferro, não se verificam variações no coeficiente de repetibilidade, uma vez que os valores máximos são iguais para 1 e 3 leituras.

3.5 Análise de duplicados

Por cada análise, efetuou-se a leitura de pelo menos uma amostra em duplicado. Como critério de controlo de qualidade estabelecido na empresa A.Logos, a diferença entre

a concentração obtida em cada uma das leituras deve ser inferior a 10% para amostras que apresentem concentração superior ao limite de quantificação. No entanto, se a concentração de analito na amostra estiver próximo do valor do LQ, isto é, se o valor de concentração estiver dentro do intervalo estipulado para a aceitação do padrão de controlo de menor concentração, o erro relativo máximo aceitável é de 15%. Neste trabalho, o valor relativo obtido para a análise de duplicados foi representado em cartas de controlo. Nas Figura 7 e 8, temos as cartas de controlo para o cobre, para a análise efetuada com 3 e 1 leituras, respetivamente. As cartas de controlo de duplicados para os restantes metais em estudo encontram-se no Anexo 3, nas Figuras 1 a 8.



LIA – Limite Inferior de Aviso

LSC – Limite Superior de Controlo

Figura 7 - Carta de controlo de duplicados do cobre para 3 leituras.

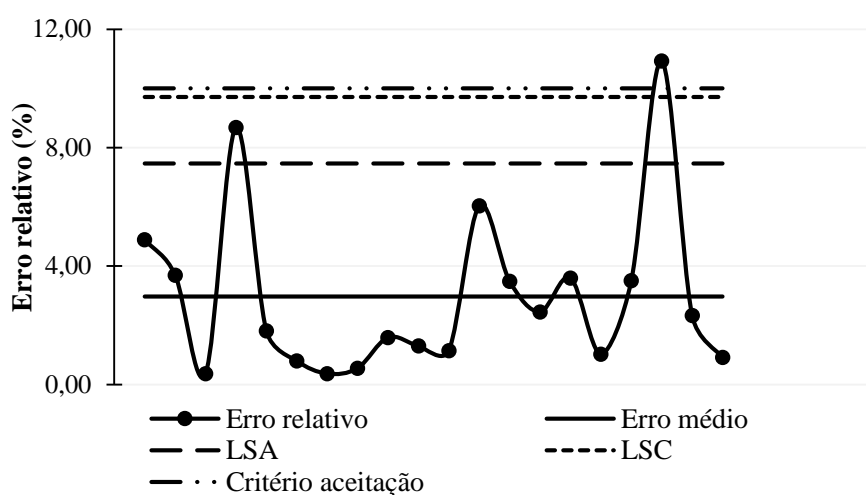


Figura 8 - Carta de controlo de duplicados do cobre para 1 leitura.

Para o cobre, a diferença relativa entre duplicados foi no máximo 9% para a análise efetuada com 3 leituras e 11% para a análise efetuada com 1 leitura. No caso do alumínio, a diferença relativa entre duplicados foi no máximo 10% para 3 leituras e 12% para 1 leitura. No chumbo, a máxima diferença relativa entre duplicados para 3 leituras foi de 8% e para 1 leitura foi de 12%. Para o ferro, a diferença relativa entre duplicados teve uma variação máxima para a análise com 3 leituras de 10% e de 9% para a análise com 1 leitura. No caso do níquel, verificou-se que a diferença relativa entre duplicados apresentou uma variação máxima, de 14% e 15% para a análise efetuada com 3 e 1 leituras, respetivamente.

Podemos concluir, através da análise das Figuras 7 e 8 deste documento e das Figuras 1 a 8 do Anexo 3 que, para todos os metais, exceto o ferro, a diferença relativa entre duplicados aumenta quando se diminui o número de leituras, encontrando-se os valores máximos entre duplicados dentro dos limites estipulados no controlo de qualidade da empresa A.Logos.

Um valor elevado na diferença relativa na leitura de amostras em duplicado pode afetar a precisão do método, indicando problemas nas condições de repetibilidade do método. Como podemos observar nas Figuras 7 e 8 deste documento e nas Figuras 1 a 8 do Anexo 3, para todos os metais, exceto o ferro, obtiveram-se alguns valores de erro relativo superiores a 10%, para a análise efetuada com 3 e/ou 1 leituras, mas estes valores correspondem a amostras cuja concentração de analito é próxima do limite de quantificação e por esta razão aceita-se uma diferença relativa entre duplicados até 15%.

3.6 Ensaios de recuperação

A RELACRE define “que um método é específico quando permite discriminar o analito relativamente a outras substâncias, eventualmente presentes na amostra a analisar” (RELACRE 2000). Para garantir que não existem interferências de matriz realizam-se ensaios de recuperação para avaliar se a grandeza quantificada provém apenas do analito em análise.

Por cada sessão de trabalho fez-se pelo menos um ensaio de recuperação. Para efetuar os ensaios de recuperação, adicionou-se uma quantidade conhecida de uma solução de concentração conhecida a um determinado volume de uma amostra aleatória. A percentagem de recuperação deve situar-se entre 80 e 120%.

Nas Figuras 9 e 10 encontram-se as cartas de aceitação de ensaios de recuperação do cobre, para 1 e 3 leituras:

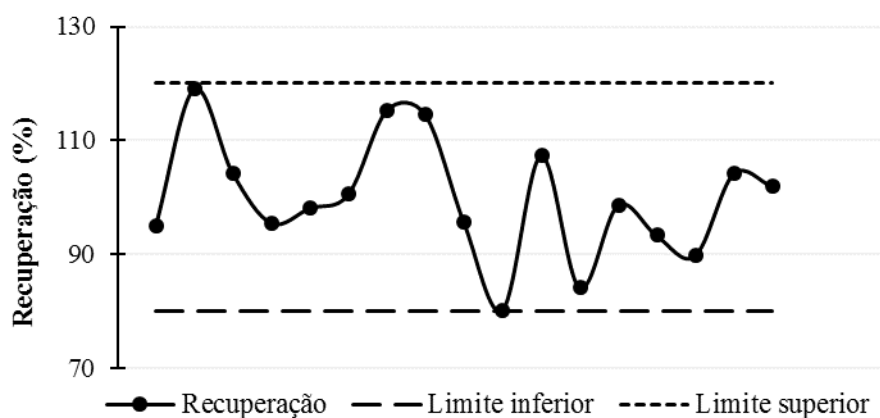


Figura 9 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do cobre para 3 leituras.

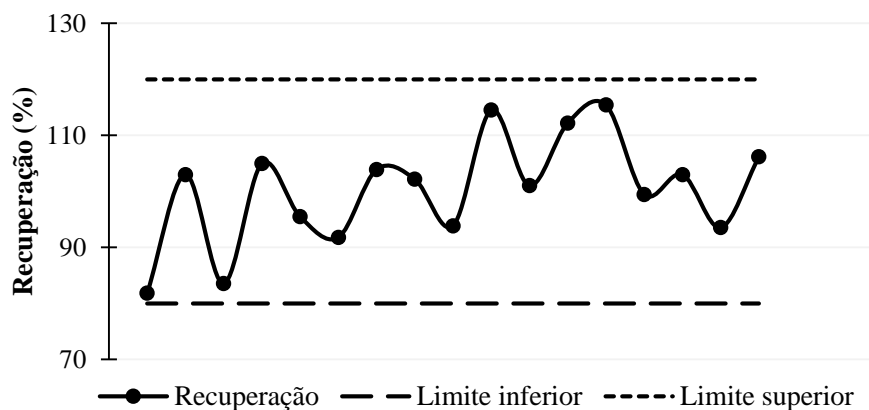


Figura 10 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do cobre para 1 leitura.

As cartas de aceitação de ensaios de recuperação para os restantes metais em estudo encontram-se no Anexo 4.

Para o cobre, as percentagens de recuperação variam entre 80 e 119% para 3 leituras e 82 e 115% para 1 leitura. Para o alumínio as percentagens de recuperação foram entre 80 e 118% para 3 leituras e 80 e 112% para 1 leitura. Para chumbo, as recuperações estão entre 81 e 115% para 3 leituras e 81 a 118% para 1 leitura. O ferro teve percentagens de recuperação entre 85 e 110% para 3 leituras e 87 e 120% para 1 leitura. No caso do níquel as recuperações variam entre 86 e 119% para 3 leituras e 89 e 116% para 1 leitura.

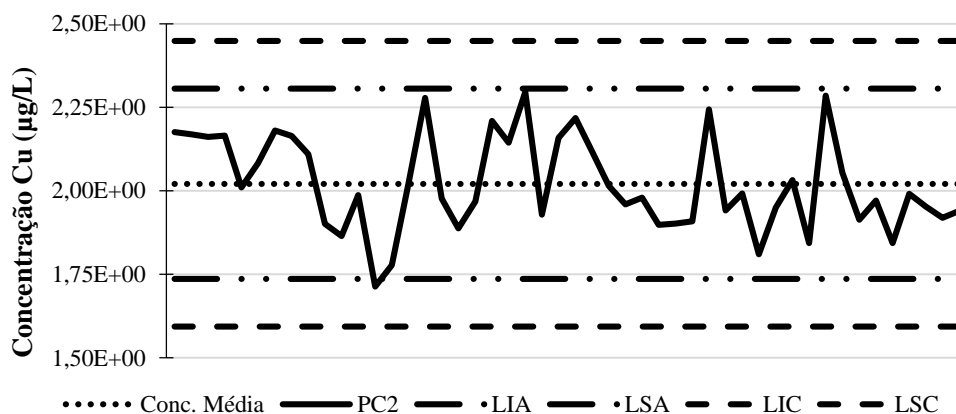
No caso do alumínio, cobre e níquel o valor mínimo aumenta e o valor máximo diminui quando se faz apenas uma leitura, levando a que os intervalos obtidos se encontrem mais afastados dos extremos estipulados pelo laboratório e mais próximos do valor ideal de 100% do que com a análise efetuada com 3 leituras, o que indica que a

diminuição do número de leituras pode afetar a precisão do método para alguns dos metais em estudo. Todos os valores obtidos para os ensaios de recuperação, quer com 3 leituras quer com 1 leitura, estão de acordo com os limites estipulados pela empresa A.Logos.

3.7 Padrões de controlo

Para cada um dos metais existem dois padrões de controlo (PC), um de concentração igual à do padrão de menor concentração da curva de calibração, e um de concentração que corresponde ao ponto médio da curva de calibração. Os padrões de controlo foram lidos, pelo menos, por cada bloco de dez amostras.

No caso do cobre, o PC de menor concentração corresponde a 2,0 µg/L (PC2) e o de maior concentração corresponde a 5,0 µg/L (PC5). As Figuras 11 a 14 apresentam as cartas de controlo para os padrões de controlo do cobre, para a análise efetuada com 3 e 1 leituras.



LIA – Limite Inferior de Aviso

LSA – Limite Superior de Aviso

LIC – Limite Inferior de Controlo

LSC – Limite Superior de Controlo

Figura 11 - Carta de controlo do PC2 do cobre para 3 leituras.

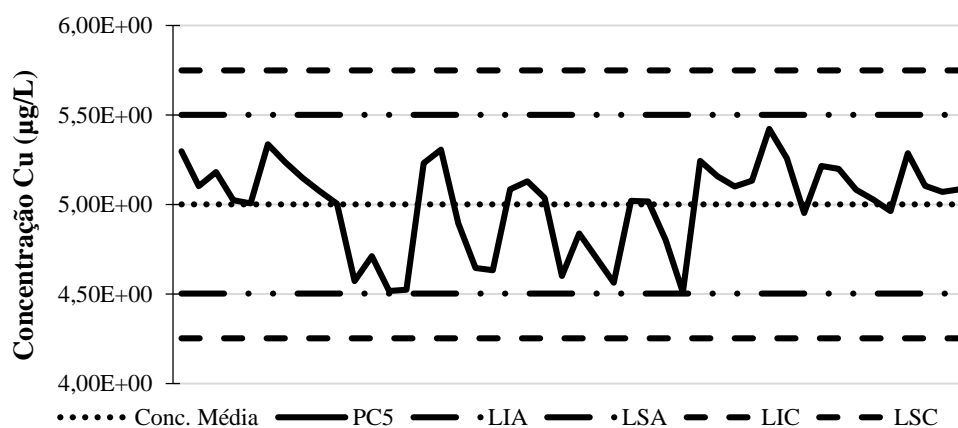


Figura 12 - Carta de controle do PC5 do cobre para 3 leituras.

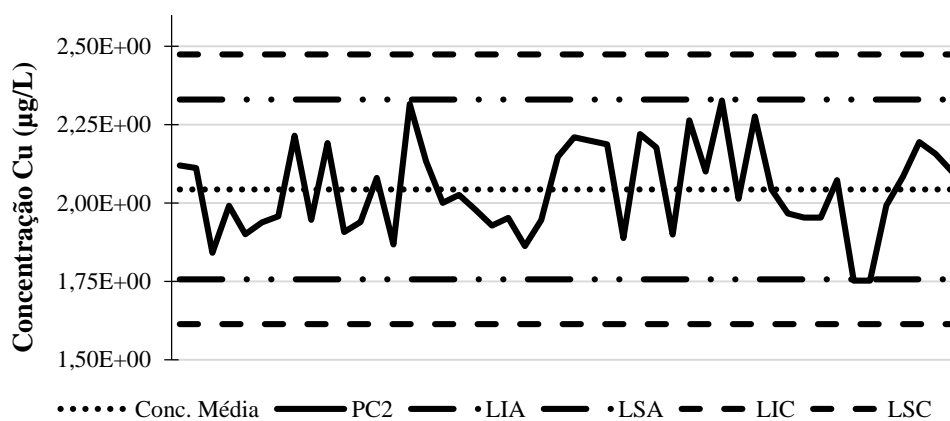


Figura 13 - Carta de controle do PC2 do cobre para 1 leitura.

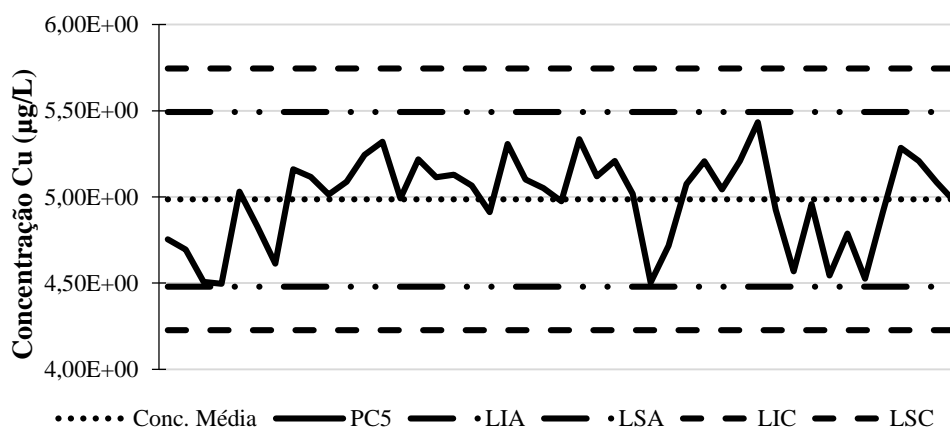


Figura 14 - Carta de controle do PC5 do cobre para 1 leitura.

As cartas de controlo para os PC dos restantes metais em estudo encontram-se nas Figuras 1 a 16 do Anexo 5.

Como controlo de qualidade a empresa A.Logos estabelece limites de aceitação inferiores e superiores para os dois padrões de controlo analisados para cada metal em estudo. Como podemos observar nas Figuras 11 a 14 deste documento e nas Figuras 1 a 16 do Anexo 6, todos os padrões de controlo analisados ao longo do estudo, para os cinco metais, estão dentro dos limites de aceitação estipulados pela empresa A.Logos. Podemos concluir que não se verifica a existência de tendências nas cartas de controlo dos padrões de controlo para os metais em estudo, quer para a análise efetuada com 3 quer para 1 leituras. Podemos observar também, que em nenhuma situação existem valores fora dos limites de controlo, indicando desta forma que não há erros aleatórios e anormais a perturbar os resultados nem quando se realizam 3 leituras, nem quando se diminui para 1 o número de leituras. Ao constatar que a diminuição do número de leituras não afeta significativamente os valores de concentração obtidos quando se analisam padrões de controlo, podemos inferir que para nenhum dos metais em estudo se verifica uma alteração da precisão do método quando se diminui o número de leituras, garantido que a qualidade associada ao método se mantém quando se faz apenas 1 leitura.

3.8 Análise de amostras

Quando se pretende aplicar um novo método de análise química, sendo que neste caso o novo método consiste numa melhoria do anteriormente utilizado, o novo método a aplicar deve ser validado por aplicação a uma série de amostras previamente analisadas por um método já reconhecido e padronizado, sendo o principal objetivo desta comparação a identificação de erros sistemáticos (Miller & Miller 2010). Para avaliar se a alteração do método, provocada pela diminuição do número de leituras de 3 para 1, afeta significativamente os resultados obtidos, foi realizada uma comparação de métodos analíticos recorrendo a curvas de regressão. Para isto foram lidas amostras dentro da gama de trabalho de cada um dos metais em estudo, utilizando o procedimento em vigor na empresa A.Logos, a espectrofotometria de absorção atómica com atomização em câmara de grafite efetuando 3 leituras por amostra e, seguidamente, as mesmas amostras foram analisadas utilizando a melhoria que se pretende aplicar ao método, isto é, fazendo apenas 1 leitura. De acordo com os autores Miller & Miller (2010), para comparar os dois métodos

pela análise de concentração de analito em várias amostras pertencentes a um intervalo de concentração correspondente à gama de trabalho do método para cada metal, recorre-se a uma curva de regressão em que um dos eixos do gráfico de regressão é utilizado para os resultados obtidos pelo novo método, e o outro eixo corresponde aos resultados obtidos pelo método já conhecido (Miller & Miller 2010). No presente estudo, o eixo do x corresponde aos valores de concentração obtidos pelo método com 3 leituras (método atualmente utilizado pela empresa) e o eixo do y corresponde aos valores de concentração de amostras obtidos com 1 leitura apenas. Cada ponto do gráfico representa uma única amostra analisada separadamente pelos dois métodos a comparar, e são então calculados o declive, a ordenada na origem e o coeficiente de correlação da curva de regressão formada pela análise das amostras pelos dois métodos. Idealmente, cada amostra teria a mesma concentração quando analisada pelos dois métodos, o que originaria uma curva cujo declive e coeficiente de correlação seriam 1 e a ordenada na origem seria 0, mas na prática tal não acontece, uma vez que, mesmo na ausência de erros sistemáticos continuam a ocorrer erros aleatórios que fazem com que os resultados obtidos pelos dois métodos não sejam exatamente iguais. Assim, é importante garantir que os parâmetros da curva de regressão obtida não diferem significativamente dos ideais, isto é, que o declive não difere significativamente de 1 e que a ordenada na origem não difere significativamente de 0 e para isto calculam-se os intervalos de confiança para estes parâmetros com um nível de significância de 95%, e os valores ideais devem estar contidos neste intervalo (Miller & Miller 2010).

Na Figura 15, apresenta-se a representação gráfica da concentração de cobre nas amostras para 3 leituras e 1 leitura.

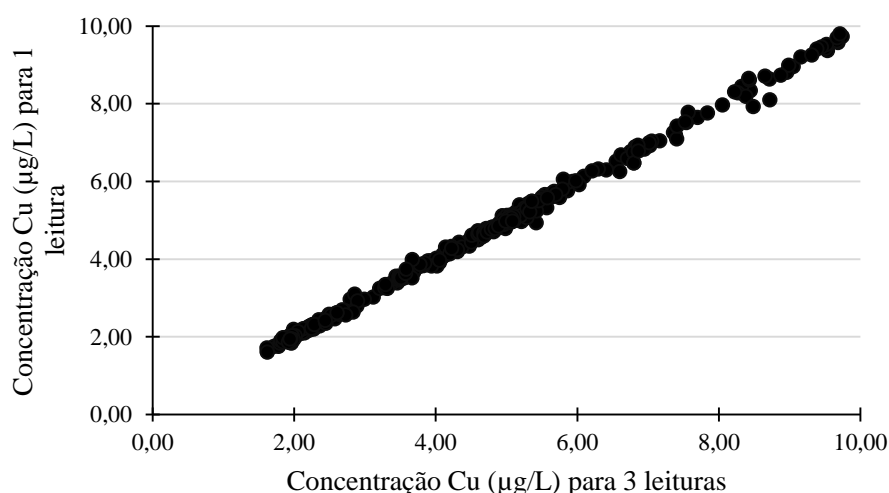


Figura 15 - Correlação da concentração de cobre nas amostras analisadas com 3 e 1 leitura.

Recorreu-se à execução de um teste ANOVA para avaliar os intervalos de confiança associados ao declive (Variável X 1 nas tabelas) e à ordenada na origem (Interceptar na tabelas). Na tabela 16 está apresentado o teste ANOVA efetuado para o cobre.

Tabela 16 – Valores de regressão para a correlação das amostras analisadas para o cobre.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,999
R ²	0,997
R ² ajustado	0,997
Erro-padrão	9,87E-02
Observações	360

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significância</i>
Regressão	1	1,38E+03	1,38E+03	1,42E+05	0
Residual	358	3,48	9,73E-03		
Total	359	1,39E+03			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor P</i>	<i>95% inferior</i>	<i>95% superior</i>	<i>90 % inferior</i>	<i>90% Superior</i>
Interceptar	4,94E-02	1,29E-02	3,82296	0,000155	2,40E-02	7,48E-02	2,81E-02	7,07E-02
Variável X 1	0,988	2,62E-03	377	0	0,983	0,993	0,983	0,992

Os gráficos de correlação e as respectivas tabelas de regressão para os restantes metais em estudo encontram-se no Anexo 6, nas Figuras 1 a 4 e nas Tabelas 1 a 4.

Como podemos observar na Tabela 16, a comparação dos resultados obtidos pela análise de amostras com 3 e 1 leituras, permite concluir que o cobre apresenta diferenças estatísticas entre os dois métodos para um intervalo de confiança de 95%, indicando assim que uma possível diminuição do número de leituras de 3 para 1 afetaria de forma negativa os resultados obtidos para as amostras a analisar. Para o cobre aumentou-se o critério de aceitação, avaliando-se novamente a existência de diferenças estatísticas entre os dois métodos para um intervalo de confiança de 90% e verificou-se que mesmo para um intervalo de confiança de 90%, os dois métodos também são estatisticamente diferentes.

Para os restantes elementos (alumínio, chumbo, ferro e níquel), como podemos observar e concluir com a análise das Tabelas 1 a 4 do Anexo 6, os dois métodos não apresentam diferenças estatísticas significativas, pelo que uma diminuição do número de leituras de 3 para 1 na análise de amostras por espectrofotometria de absorção atômica não afetaria os resultados obtidos.

4. CONCLUSÕES

Neste estudo realça-se a importância da quantificação dos metais alumínio, cobre, chumbo, ferro e níquel em águas para consumo humano através do método de espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite, devido à sua elevada sensibilidade e capacidade de atingir bons limites de deteção e quantificação, sendo um método adequado a este propósito. A quantificação efetuada por este método de análise preenche os requisitos estipulados por lei, para a quantificação dos metais em causa em águas de consumo humano, de forma a garantir a qualidade das mesmas.

A qualidade das águas é um fator determinante na saúde humana. É fundamental efetuar um rigoroso controlo de qualidade das águas de forma a garantir que estas não estão contaminadas. O alumínio, o chumbo, o cobre, o ferro e o níquel são contaminantes das águas de consumo humano com efeitos adversos para a saúde dos consumidores, pelo que é essencial garantir que não se encontram em quantidades superiores às estipuladas por lei. Assim, é essencial garantir uma análise rigorosa da concentração destes metais nas águas de consumo. Ao longo deste trabalho verificou-se que todas as amostras cumpriam os requisitos estipulados por lei, não apresentando concentrações dos metais superiores ao valor paramétrico definido para cada um.

O objetivo principal deste trabalho foi a tentativa de implementação de melhorias no método de quantificação de metais em água por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite. As melhorias pretendidas correspondem à vontade de diminuir o número de leituras de padrões e amostras de forma a diminuir os custos e o tempo associados a cada análise efetuada. Para avaliar a possibilidade de implementação desta melhoria foram feitos estudos de verificação do método, efetuando análises com 3 e 1 leitura. Os estudos incidiram na análise e comparação dos parâmetros da curva de calibração, estimativa de limites de deteção e quantificação, análise de brancos, estudos de repetibilidade, análise de duplicados, análise de padrões de controlo e realização de ensaios de recuperação e comparação dos valores obtidos com os valores estabelecidos na empresa de modo a verificar se todos os parâmetros de controlo de qualidade implementados pelo laboratório A.Logos se mantinham. Foram também analisadas amostras, sendo que os resultados obtidos na análise efetuada com 3 e 1 leituras foram comparados de forma a averiguar a existência de diferenças estatísticas significativas.

Os resultados obtidos permitem verificar para o alumínio uma possível alteração na linearidade da curva de calibração quando se passa de 3 para 1 leituras. Verifica-se também que este metal apresenta valores de limite de deteção e quantificação superiores quando as amostras são analisadas com o número de leituras reduzido, sendo que estimando os valores de limite de deteção e quantificação com base nos parâmetros da curva de calibração se verificou que estes são superiores aos valores definidos pelo laboratório A.Logos. Com base na avaliação destes resultados, sugere-se ao laboratório A.Logos uma melhoria das práticas de descontaminação do material utilizado na análise de amostras para quantificação de alumínio por espectrofotometria de absorção atômica com câmara de grafite ou, em alternativa, um aumento do valor estipulado para os limites de deteção e quantificação. No estudo do coeficiente de variação de repetibilidade do alumínio e na análise de duplicados, verificam-se alterações quando se passa da análise com 3 para 1 leituras, indicando que a diminuição do número de leituras pode afetar a repetibilidade e consequentemente a precisão do método, embora os valores obtidos obedeçam aos critérios de controlo de qualidade estipulados pelo laboratório mesmo quando se diminui o número de leituras. Na análise de brancos verificou-se que para 1 leitura existem valores acima do critério de aceitação. Os resultados referentes ao estudo dos ensaios de recuperação obtidos para o alumínio, a análise do erro relativo nas amostras de padrões de controlo e a comparação da análise de amostras pelos dois métodos não sofrem alterações relevantes quando a análise deste metal é efetuada com 1 em vez de 3 leituras.

Com o estudo efetuado para o chumbo, as situações problemáticas que surgem com a diminuição do número de leituras consistem num aumento na diferença entre a análise de duplicados, embora este aumento não afete os critérios de controlo de qualidade estabelecidos pelo laboratório. Todos os outros parâmetros indicam que não existem alterações significativas no método quando se reduzem o número de leituras. Mesmo que a alteração ao método não seja feita, sugere-se à empresa uma diminuição dos limites de quantificação e deteção, uma vez que os valores obtidos a partir dos parâmetros da curva de calibração para 3 leituras, estão abaixo dos valores estipulados pelo laboratório.

O cobre não apresenta diferenças significativas entre os dois métodos no que concerne aos parâmetros da curva de calibração, aos limites de deteção, aos coeficientes de variação de repetibilidade e ao erro associado aos padrões de controlo. Todavia, a

diferença entre duplicados é superior quando se efetua apenas uma leitura, embora continue a obedecer aos critérios de controlo de qualidade da A.Logos, e a comparação dos dois métodos com base na análise da concentração do analito em amostras, demonstra que há diferenças estatísticas significativas que podem alterar de forma negativa o método se for diminuído o número de leituras, mas o histórico existente é ainda insuficiente para se poderem ter conclusões válidas.

No ferro apenas um dos parâmetros avaliados pode apresentar efeitos negativos ao diminuir-se para 1 o número de leituras efetuadas à amostra, sendo este os ensaios de recuperação. No estudo efetuado, os resultados obtidos nos ensaios de recuperação apresentam um intervalo superior quando se efetua apenas uma leitura, no entanto todos os valores estão dentro do intervalo estipulado para o controlo de qualidade do laboratório A.Logos. Nenhum dos outros parâmetros estudados apresenta variações relevantes quando se diminui o número de leituras e verifica-se ainda que para os ensaios de repetibilidade e análise de duplicados os resultados são melhores quando se efetua apenas 1 leitura. Desta forma, não existem alterações no método que sugiram um impedimento da melhoria proposta.

O níquel não apresenta alterações significativas no método associadas à alteração do número de leituras para os parâmetros da curva de calibração, para a análise de amostras em duplicado, para os ensaios de recuperação, para a análise de padrões de controlo e para a comparação da análise de amostras pelos dois métodos. Relativamente ao LQ e ao LD os valores obtidos a partir dos parâmetros da curva de calibração são superiores aos estipulados pelo laboratório, independentemente do número de leituras efetuadas, pelo que se sugere que sejam aplicadas as medidas acima descritas para o metal alumínio, para o qual se verifica a mesma situação. Verificaram-se ainda problemas na análise de brancos para o níquel, pois tanto para 3 como para 1 leituras existem valores acima do critério de aceitação, por vezes próximos ou superiores do limite de deteção, que podem resultar de contaminações como anteriormente referido. Assim, com base no histórico atualmente existente, uma diminuição do número de leituras pode afetar a quantificação de níquel por espectrofotometria de absorção atómica com câmara de grafite.

Foram elaboradas para os metais em estudo fichas de validação, de forma a evidenciar que o método obedece aos critérios de controlo de qualidade estipulados pelo laboratório quer para 3 como para 1 leituras. As fichas de validação encontram-se no

Anexo 7. Para o chumbo, o cobre, o ferro e o níquel todos os valores dos vários parâmetros respeitam os critérios de controlo de qualidade do laboratório, como se pode ver nas tabelas 2 a 5 do Anexo 7. Para o alumínio existe um valor de coeficiente de correlação inferior ao critério de qualidade estipulado, no entanto isto acontece apenas para uma curva de calibração.

Na tabela 17, é feito um resumo dos resultados obtidos para os diversos parâmetros em estudo neste trabalho de melhoria e verificação do método de análise de metais por espectrofotometria de absorção atómica com atomização em câmara de grafite.

Tabela 17 – Valores obtidos para os diversos parâmetros em estudo, para cada um dos metais e para 3 e 1 leituras.

	Alumínio			Chumbo		Cobre		Ferro		Níquel	
		3 leituras	1 leituras	3 leituras	1 leitura	3 leituras	1 leituras	3 leituras	1 leitura	3 leituras	1 leitura
Coeficiente de correlação (R)	Mín	0,9978	0,9935	0,9987	0,9969	0,9984	0,9984	0,9979	0,9975	0,9991	0,9977
	Máx	0,9994	0,9989	0,9999	0,9999	0,9997	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9994
Declive	Mín	6,14E-03	6,10E-03	5,64E-03	5,71E-03	1,59E-02	1,59E-02	4,77E-03	4,70E-03	1,83E-02	1,81E-02
	Máx	7,08E-03	7,06E-03	9,13E-03	9,46E-03	2,76E-02	2,77E-02	5,90E-03	5,94E-03	2,41E-02	2,44E-02
Ordenada na origem	Mín	1,91E-02	2,42E-02	5,69E-04	-1,21E-04	6,41E-03	6,65E-03	9,74E-03	9,32E-03	2,36E-03	1,38E-03
	Máx	3,85E-02	4,09E-02	6,30E-03	6,46E-03	1,69E-02	1,66E-02	2,89E-02	2,70E-02	1,52E-02	1,37E-02
Limite de Detecção (reta)	Mín	4,18	5,83	0,140	0,0600	0,290	0,255	2,49	2,01	0,204	0,379
	Máx	8,15	14,0	0,570	0,880	0,710	0,703	7,30	7,98	0,474	0,763
Limite de Quantificação (reta)	Mín	13,9	19,4	0,500	0,190	0,967	0,852	8,30	6,70	0,680	1,26
	Máx	27,2	46,8	1,90	2,93	2,37	2,34	24,3	26,6	1,58	2,54
Branços	Mín	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Máx	4,81E+00	1,49E+01	1,54E-01	2,94E-01	6,87E-01	9,20E-01	8,29E+00	8,61E+00	9,93E-01	1,05E+00
Coeficiente de variação (%)	Mín	2	2	1	2	1	1	1	2	1	2
	Máx	8	12	7	7	4	6	5	5	12	13
Duplicados	Mín	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Máx	10	12	8	12	9	11	10	9	14	15
Enaios de Recuperação (%)	Mín	80	80	81	81	80	82	85	87	86	89
	Máx	118	112	115	118	119	115	110	120	119	116
PC min.	Mín	8,29E+00	7,68E+00	1,73E+00	1,71E+00	1,71E+00	1,75E+00	1,74E+01	1,65E+01	7,68E-01	7,62E-01
	Máx	1,26E+01	1,23E+01	2,29E+00	2,28E+00	2,30E+00	2,33E+00	2,27E+01	2,31E+01	1,20E+00	1,24E+00
PC max.	Mín	4,26E+01	4,65E+01	4,49E+00	4,47E+00	4,51E+00	4,50E+00	4,26E+01	4,26E+01	4,56E+00	4,51E+00
	Máx	5,67E+01	5,69E+01	5,55E+00	5,68E+00	5,42E+00	5,43E+00	5,61E+01	5,68E+01	5,59E+00	5,70E+00

Em resumo e com base na informação que foi possível obter durante a realização deste Estágio, pode-se inferir que é possível reduzir de 3 para 1 o número de leituras usado na quantificação dos metais alumínio, chumbo, cobre, ferro e níquel em águas de consumo por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite. Embora a sensibilidade e a precisão do método possam ser afetadas pela diminuição do número de leituras, continuam a ser assegurados os critérios de qualidade do laboratório, sendo que ainda que com um erro associado ligeiramente maior é possível fazer análises mais rapidamente e com um menor custo associado.

No que concerne a possíveis etapas/trabalhos futuros, sugere-se que o laboratório realize este mesmo estudo para os restantes metais quantificados por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em câmara de grafite (antimônio, arsénio, cádmio, crómio e manganês), de forma a aumentar a rapidez e a melhorar o preço do serviço prestado pelo laboratório A. Logos no âmbito da quantificação de metais em águas de consumo. Sugere-se ainda que seja continuado o estudo para o alumínio e níquel.

5. BIBLIOGRAFIA

- ATSDR, 2008. Aluminum- ToxFAQsTM. , pp.1–2.
- ATSDR, 2004. Copper - ToxFAQsTM.
- ATSDR, 2007. Lead – ToxFAQsTM. , pp.1–2.
- ATSDR, 2005. Nickel - ToxFAQsTM. , pp.0–1.
- Caussy, D., Gochfeld, M., Gurzau, E., Neagu, C., Ruedel, H., 2003. Lessons from case studies of metals: Investigating exposure, bioavailability, and risk. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, pp.45–51.
- Cisneros, B.J., 2014. *Water Reclamation and Sustainability* 1st ed. S. Ahuja, ed., Elsevier.
- Dean, J.R., 1997. *Atomic Absorption and Plasma Spectroscopy* 2nd ed. D. J. Ando, ed., Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
- Decreto-Lei nº 306/2007. Diário da República, I Série (Nº164),pp 5747-5765.
- Elemental, T., 2001. AAS, GFAAS, ICP or ICP-MS ? Which technique should I use ? , p.12.
- EPA, Drinking Water Contaminants.
- Flouty, R. & Estephane, G., 2012. Bioaccumulation and biosorption of copper and lead by a unicellular algae *Chlamydomonas reinhardtii* in single and binary metal systems: A comparative study. *Journal of Environmental Management*, 111, pp.106–114.
- Gleick, P.H., 2003. Water Use. *Annual Review of Environment and Resources*, 28, pp.275–314.
- Gupta, V.K. & Rastogi, A., 2008. Biosorption of lead(II) from aqueous solutions by non-living algal biomass *Oedogonium* sp. and *Nostoc* sp.-A comparative study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 64, pp.170–178.
- Harris, D.C., 2007. *Quantitative Chemical Analysis* 7th ed., California: W. H. Freeman and Company.
- IPAC, 2011. *Guia Para a Acreditação De Laboratórios Químicos*,
- ISO 3534-1, 2006. Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: General statistical terms and terms used in probability.
- ISO 5725-1, 1994. *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions*,
- ISO 5725-6, 1994. *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 6: Use in practice of accuracy values*.
- Kamala-Kannan, S. Prabhu Dass Batvari, B., Lee, KJ., Kannan, N., Krishnamoorthy, R., Shanthi, K., Jayaprakash, M., 2008. Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (*Ulva lactuca*) in the Pulicat Lake, South East India. *Chemosphere*, 71, pp.1233–1240.
- Magarini, R., 2008. *AS Techniques for the Analysis of Environmental Samples*. PerkinElmer.
- Mahajan, R.K., Walia, TP., Lark, BS., Sumanjit., 2006. Analysis of physical and chemical parameters of bottled drinking water. *International journal of environmental health research*, 16, pp.89–98.
- Mendes, A.S.R., 2004. *Implementação e Validação de Métodos Analíticos*. , pp.1–11.
- Miller, J.N. & Miller, J.C., 2010. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* 6th ed. E. Horwood, ed., Pearson.
- Mustra, C.J.G.O., 2009. Aplicação da técnica de espectrofotometria de absorção atômica

- na análise de metais e metalóides em amostras biológicas. , p.124.
- OMS, 2007. Chemical Safety of Drinking-Water: Assessing Priorities for Risk Management. *International Journal of Environmental Studies*.
- OMS, 2011. Guidelines for drinking-water quality. In *WHO chronicle*.
- OMS/ONU, 1997. *Water Pollution Control - A Guide to the Use of Water Quality Management Principles* 1st ed. Thomson Science & Professional, ed., E & FN Spon.
- ONU, 2010. 64/292. The human right to water and sanitation. *General Assembly*, 1249(20378), p.3.
- Pal, A. He, Y., Jekel, M., Reinhard, M., Gin, KY., 2014. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environment International*, 71, pp.46–62.
- Parlamento Europeu, 1998. Directiva 98/83/CE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*.
- Perdigão, A.M. de J., 2011. *Controlo de Qualidade e Análise de Águas de Consumo Humano*. Universidade de Aveiro. Quevauviller, P. & Thompson, K.C., 2006. *Analytical Methods for Drinking Water: Advances in Sampling and Analysis Analytical*, Brussels: John Wiley & Sons, Ltd.
- RELACRE, 2000. *Guia RELACRE 13 - Validação de métodos internos de ensaio em análise química*,
- Ribeiro, M.C.C.D.M., 2006. *Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região*.
- Sari, A. & Tuzen, M., 2008. Biosorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution using green alga (*Ulva lactuca*) biomass. *Journal of Hazardous Materials*, 152, pp.302–308.
- Simas, L. Gonçalves, P., Lopes, J.L., Alexandre, C., 2005. *Controlo da Qualidade da Água Para Consumo Humano em Sistemas Públicos de Abastecimento* IRAR.,
- Tebbutt, T.H.Y., 1998. *Principles of Water Quality control* 5th ed., Elsevier Science.
- Tyler, G., 1991. AA or ICP - Which do you choose ? *Varian*, pp.1–6.
- Tyler, G., 2014. ICP-OES , ICP-MS and AAS Techniques Compared.
- Valls, M. & De Lorenzo, V., 2002. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, pp.327–338.
- VIM 2012, *Vocabulário Internacional de Metrologia*, IPQ
- Volesky, B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: Biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59, pp.203–216.
- Yadav, P. Singh, B., Mor, S., Garg, V.K., 2013. Quantification and health risk assessment due to heavy metals in potable water to the population living in the vicinity of a proposed nuclear power project site in.

REFERÊNCIAS ELETRÔNICAS

- [1] A.Logos, 2004. Disponível em: <http://www.alogos.com/gca/index.php?id=75> [Acesso a 13 de janeiro de 2015].
- [2] A.Logos, 2004. Disponível em: <http://www.alogos.com/gca/index.php?id=76> [Acesso a 13 de janeiro de 2015].
- [3] IPAC. Entidades Acreditadas. Disponível em: www.ipac.pt/ipac/funcao.asp [Acesso a 10 de dezembro de 2015]
- [4] EPA, Drinking Water Contaminants. Disponível em: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/> [Acesso a 22 de janeiro de 2015].
- [5] ATSDR, 2013. ATSDR – Priority List of Hazardous Substances. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/spl/> [Acesso a 21 de janeiro de 2015].
- [6] IPAC, 2015. A Acreditação. Disponível em: <http://www.ipac.pt/ipac/funcao.asp> [Acesso a 3 de fevereiro de 2015].
- [7] IPAC, 2014. Apresentação do IPAC. Disponível em: <http://www.ipac.pt/ipac/contactos.asp> [Acesso a 3 de fevereiro de 2015].

6. ANEXOS

ANEXO 1

Tabelas resumo dos parâmetros das curvas de calibração:

Tabela 1 - Parâmetros das curvas de calibração para o alumínio.

Coeficiente de determinação		Declive		Ordenada na origem	
3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura
0,9978	0,9981	6,40E-03	6,81E-03	2,80E-02	4,09E-02
0,9994	0,9989	7,07E-03	6,40E-03	1,91E-02	2,59E-02
0,9990	0,9988	6,14E-03	6,83E-03	2,37E-02	2,96E-02
0,9984	0,9968	6,79E-03	6,54E-03	3,49E-02	3,24E-02
0,9992	0,9986	6,78E-03	7,06E-03	3,85E-02	3,25E-02
0,9987	0,9985	6,66E-03	6,73E-03	3,23E-02	3,60E-02
0,9984	0,9985	6,53E-03	6,10E-03	2,94E-02	2,71E-02
0,9983	0,9986	7,08E-03	6,90E-03	3,55E-02	2,42E-02
0,9987	0,9935	6,46E-03	6,18E-03	2,63E-02	3,80E-02

Tabela 2 - Parâmetros das curvas de calibração para o chumbo.

Coeficiente de determinação		Declive		Ordenada na origem	
3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura
0,9998	0,9997	8,07E-03	7,41E-03	1,96E-03	1,29E-03
0,9997	0,9992	8,73E-03	7,34E-03	5,88E-04	2,27E-03
0,9995	0,9997	9,13E-03	7,31E-03	1,23E-03	2,40E-03
0,9996	0,9981	8,12E-03	7,75E-03	1,41E-03	6,46E-03
0,9998	0,9996	7,60E-03	8,18E-03	5,69E-04	2,10E-03
0,9999	0,9988	7,96E-03	7,11E-03	7,26E-04	2,30E-03
0,9998	0,9992	5,64E-03	8,64E-03	1,31E-03	1,96E-03
0,9998	0,9999	7,42E-03	5,71E-03	1,20E-03	1,07E-03
0,9994	0,9995	7,26E-03	8,01E-03	2,65E-03	5,64E-04
0,9999	0,9993	7,47E-03	7,52E-03	1,84E-03	5,93E-04
0,9987	0,9989	7,79E-03	7,95E-03	6,30E-03	1,85E-03
0,9999	0,9969	8,26E-03	9,46E-03	1,78E-03	-1,21E-04
0,9998	0,9997	7,13E-03	8,68E-03	2,19E-03	8,36E-04
0,9999	0,9999	7,63E-03	8,16E-03	2,16E-03	1,41E-03
0,9999	0,9996	8,85E-03	7,50E-03	1,39E-03	2,46E-03

Tabela 3 - Parâmetros das curvas de calibração para o ferro.

Coeficiente de determinação		Declive		Ordenada na origem	
3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura
0,9994	0,9991	5,60E-03	5,45E-03	1,63E-02	1,92E-02
0,9990	0,9978	5,37E-03	5,32E-03	1,75E-02	2,16E-02
0,9991	0,9978	5,33E-03	5,09E-03	1,39E-02	1,06E-02
0,9995	0,9975	4,77E-03	4,98E-03	9,74E-03	2,46E-02
0,9987	0,9996	5,90E-03	5,64E-03	2,89E-02	1,48E-02
0,9989	0,9998	5,29E-03	5,54E-03	1,80E-02	1,50E-02
0,9988	0,9982	5,54E-03	5,05E-03	1,73E-02	2,30E-02
0,9987	0,9980	5,18E-03	5,46E-03	1,90E-02	2,03E-02
0,9998	0,9992	5,56E-03	5,31E-03	1,52E-02	1,68E-02
0,9994	0,9989	5,57E-03	5,94E-03	1,66E-02	2,70E-02
0,9983	0,9983	5,15E-03	4,70E-03	2,13E-02	9,32E-03
0,9983	0,9985	5,01E-03	5,33E-03	1,41E-02	1,40E-02
0,9979	0,9985	5,27E-03	5,33E-03	2,35E-02	2,03E-02
0,9991	0,9995	5,50E-03	5,56E-03	1,90E-02	1,73E-02

Tabela 4 - Parâmetros das curvas de calibração para o níquel.

Coeficiente de determinação		Declive		Ordenada na origem	
3 Leituras	1 Leituras	3 Leituras	1 Leitura	3 Leituras	1 Leitura
0,9995	0,9991	2,12E-02	2,21E-02	4,88E-03	7,27E-03
0,9998	0,9991	2,12E-02	2,06E-02	5,37E-03	9,27E-03
0,9994	0,9978	1,83E-02	2,30E-02	3,52E-03	1,38E-03
0,9998	0,9990	1,91E-02	2,31E-02	5,55E-03	9,64E-03
0,9991	0,9982	2,27E-02	2,26E-02	2,36E-03	1,37E-02
0,9995	0,9993	2,20E-02	2,44E-02	5,63E-03	7,06E-03
0,9998	0,9977	2,10E-02	2,18E-02	7,07E-03	4,54E-03
0,9991	0,9994	2,25E-02	1,92E-02	3,36E-03	4,72E-03
0,9998	0,9984	2,27E-02	1,81E-02	1,06E-02	5,30E-03
0,9992	0,9993	2,24E-02	2,11E-02	1,52E-02	4,53E-03
0,9996	0,9990	2,41E-02	2,07E-02	7,96E-03	6,40E-03

ANEXO 2

Cartas de verificação de brancos

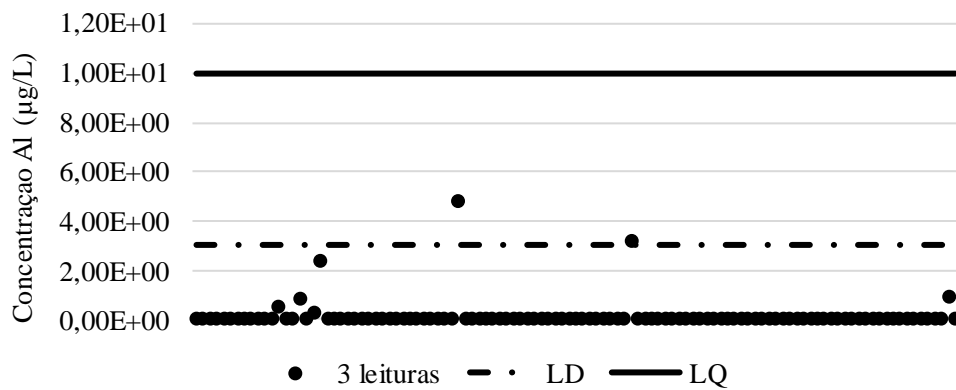


Figura 1 – Carta de verificação de brancos do alumínio para 3 leituras.

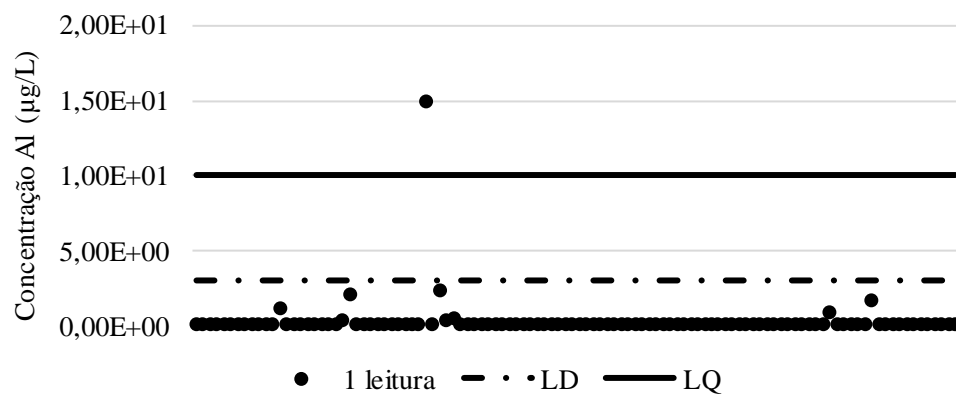


Figura 2 – Carta de verificação de brancos do alumínio para 1 leitura.

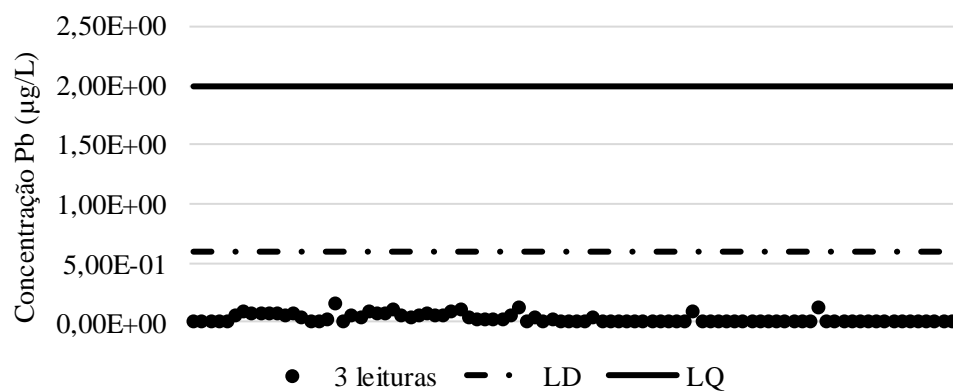


Figura 3 – Carta de verificação de brancos do chumbo para 3 leituras.

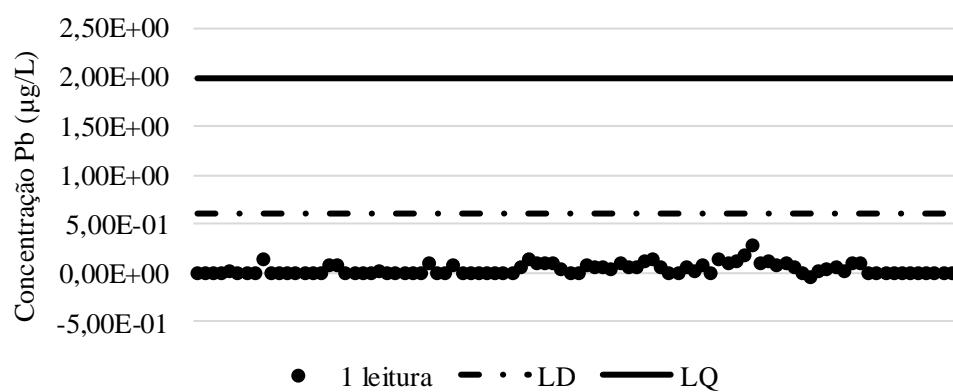


Figura 4 - Carta de verificação de brancos do chumbo para 1 leitura.

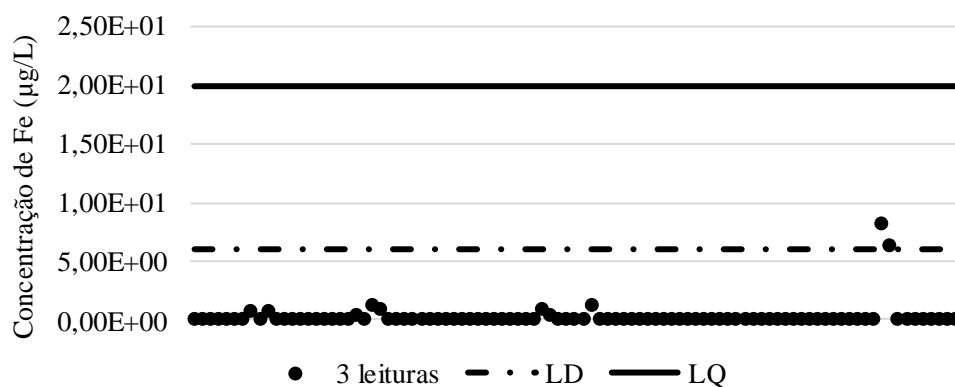


Figura 5 - Carta de verificação de brancos do ferro para 3 leituras.

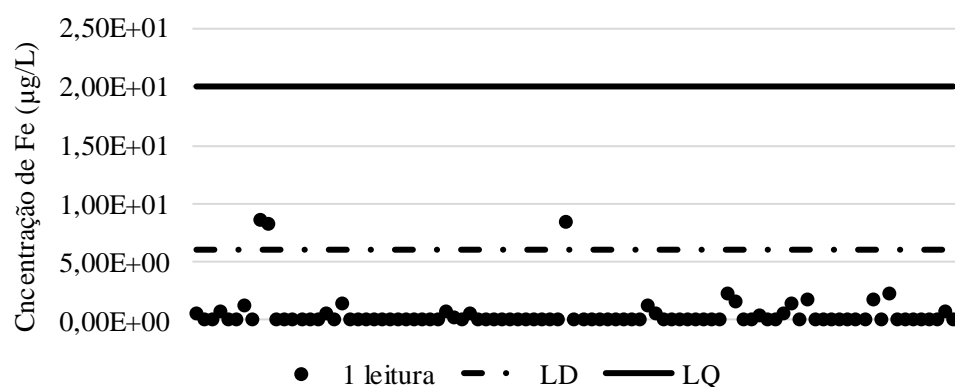


Figura 6 - Carta de verificação de brancos do ferro para 1 leitura.

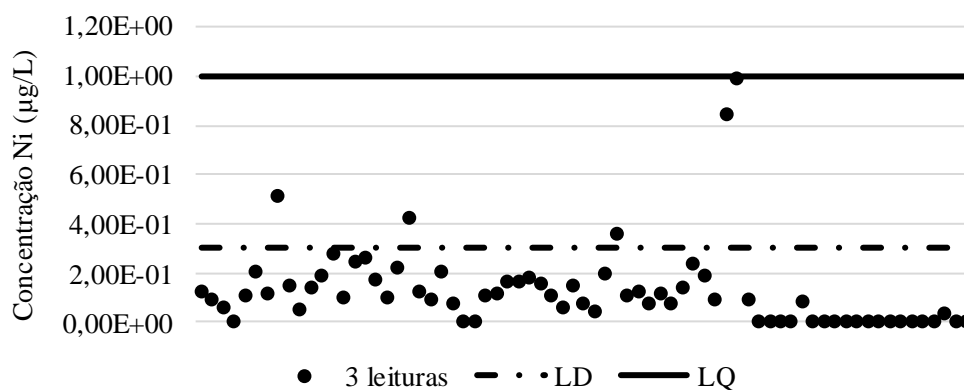


Figura 7 - Carta de verificação de brancos do níquel para 3 leituras.

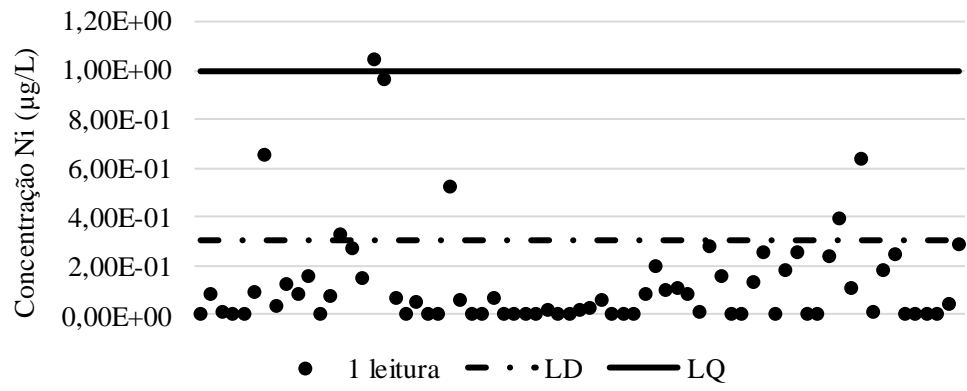
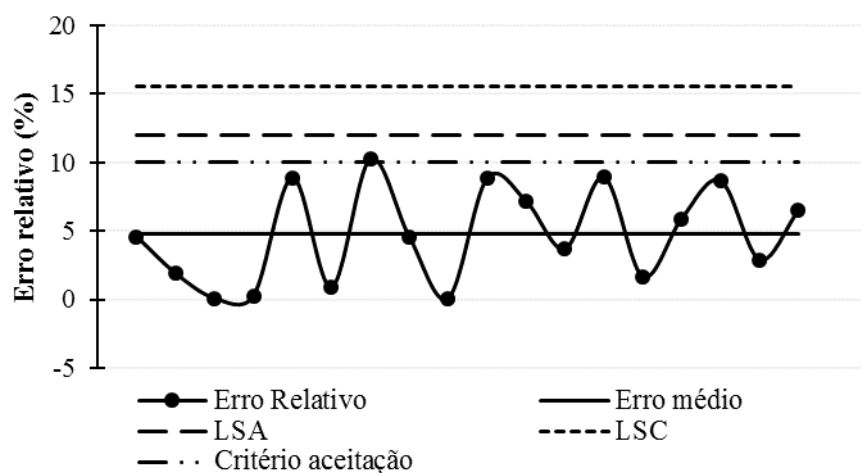


Figura 8 - Carta de verificação de brancos do níquel para 1 leitura.

ANEXO 3

Cartas de controlo de duplicados



LSA – Limite Superior de Aviso LSC – Limite Superior de Controlo

Figura 1 - Carta de controlo de duplicados do alumínio para 3 leituras.

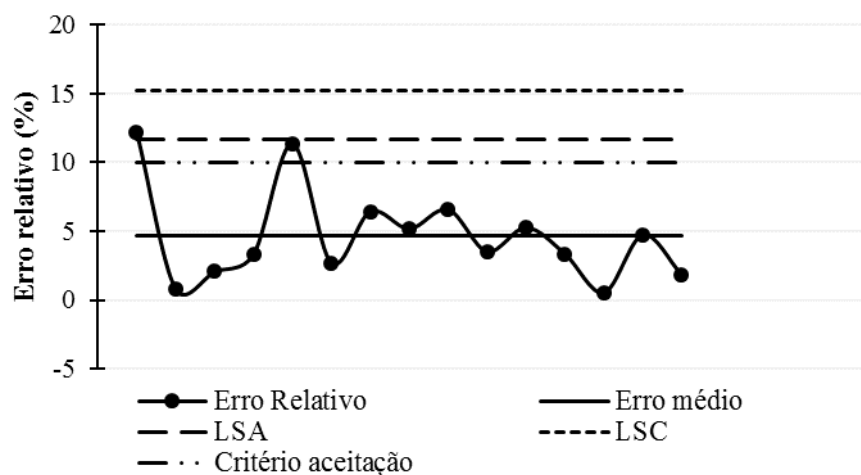


Figura 2 - Carta de controlo de duplicados do alumínio para 1 leitura.

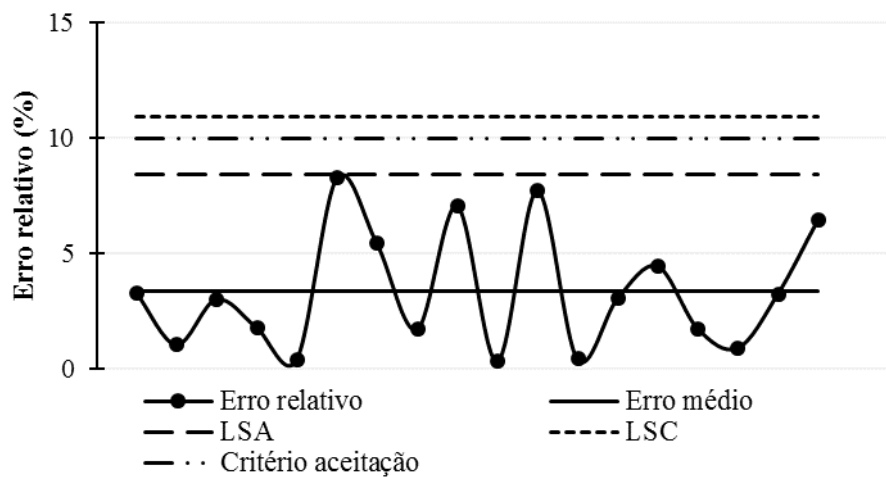


Figura 3 - Carta de controle de duplicados do chumbo para 3 leituras.

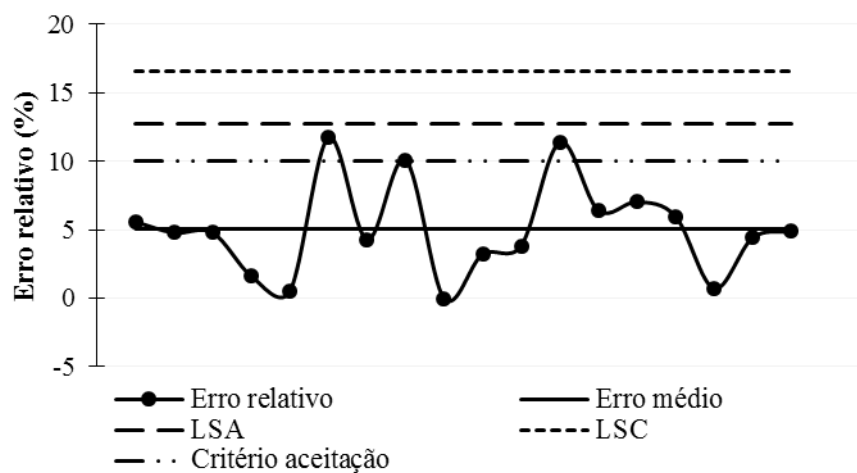


Figura 4 - Carta de controle de duplicados do chumbo para 1 leitura.

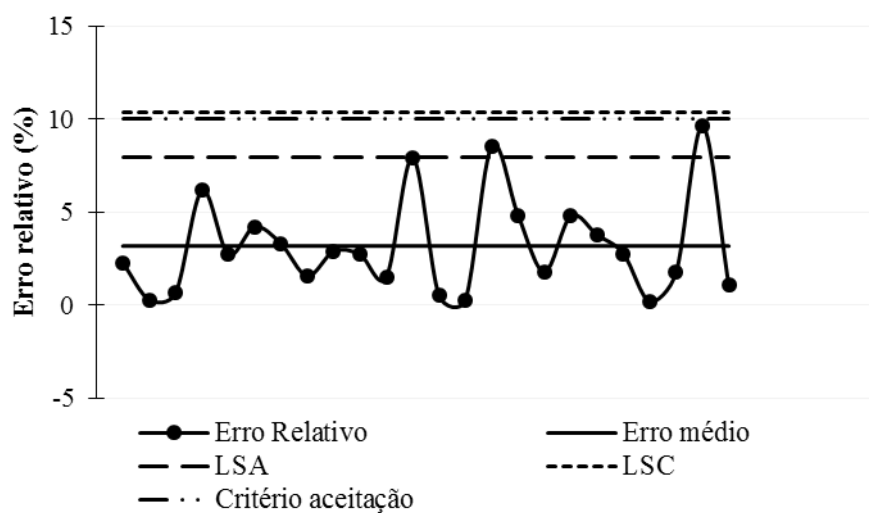


Figura 5 - Carta de controle de duplicados do ferro para 3 leituras.

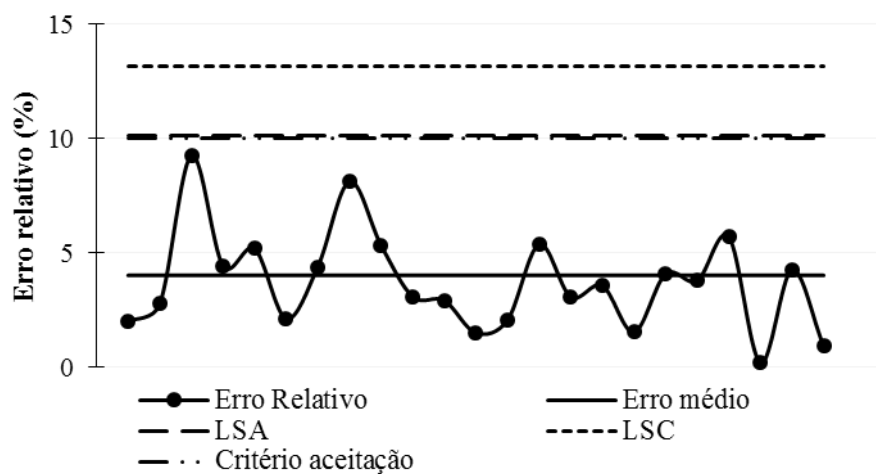


Figura 6 - Carta de controle de duplicados do ferro para 1 leitura.

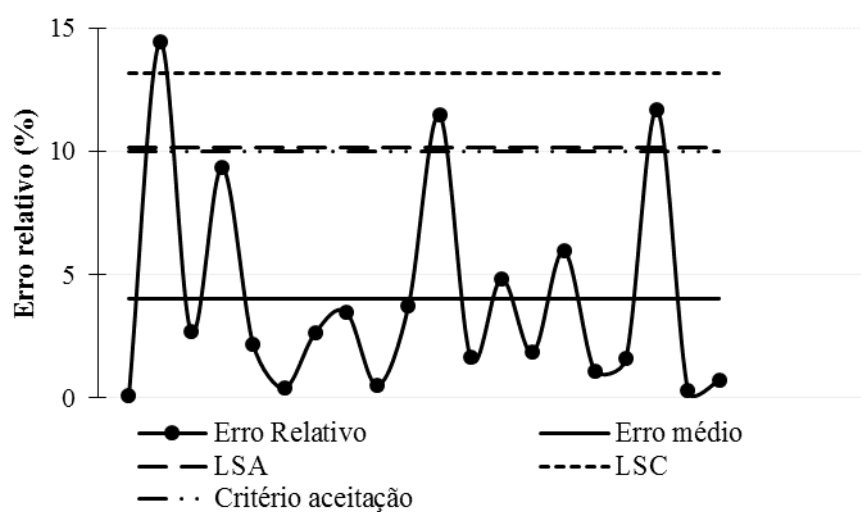


Figura 7 - Carta de controle de duplicados do níquel para 3 leituras.

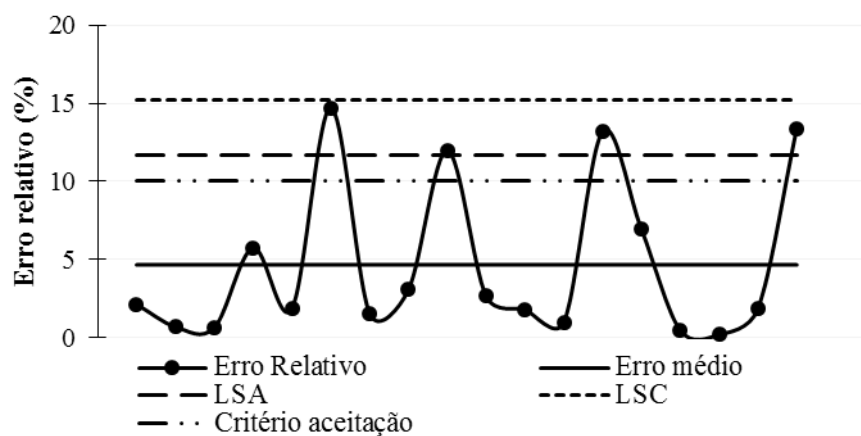


Figura 8 - Carta de controle de duplicados do níquel para 1 leitura.

ANEXO 4

Cartas de aceitação de ensaios de recuperação

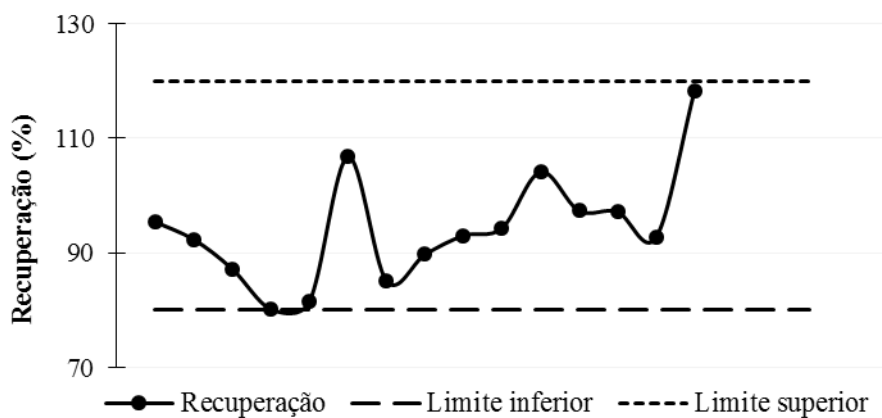


Figura 1 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do alumínio para 3 leituras.

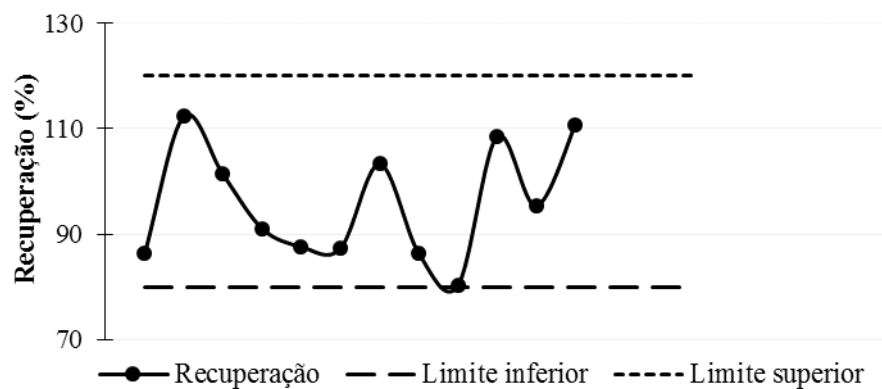


Figura 2 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do alumínio para 1 leitura.

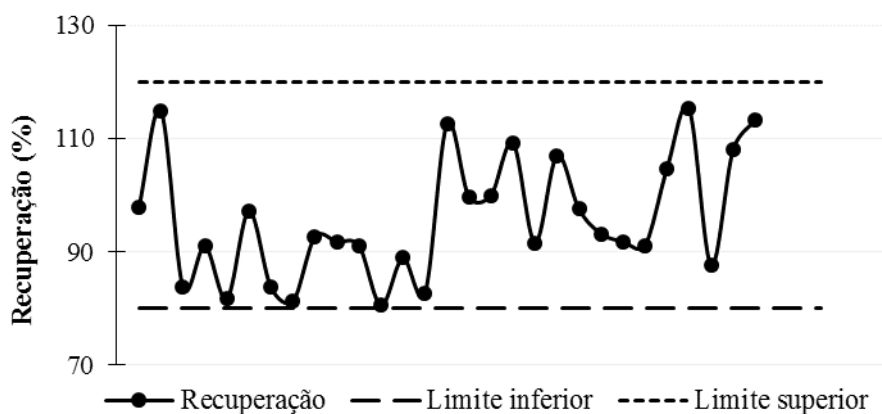


Figura 3 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do chumbo para 3 leituras.

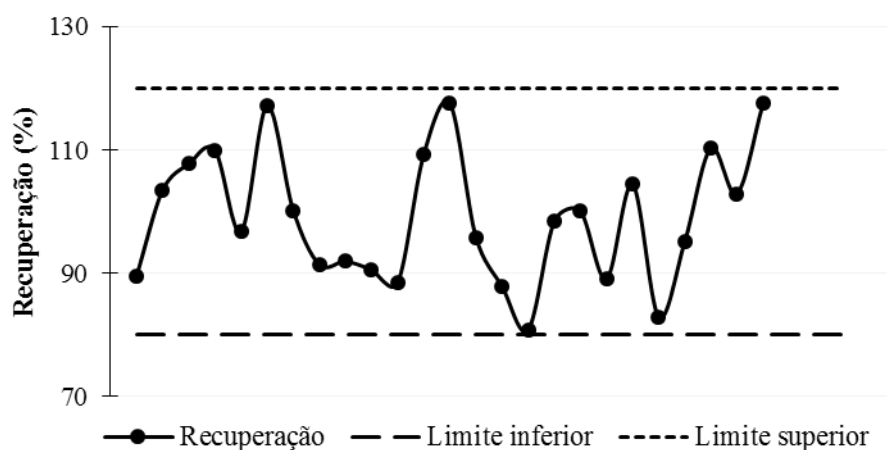


Figura 4 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do chumbo para 1 leitura.

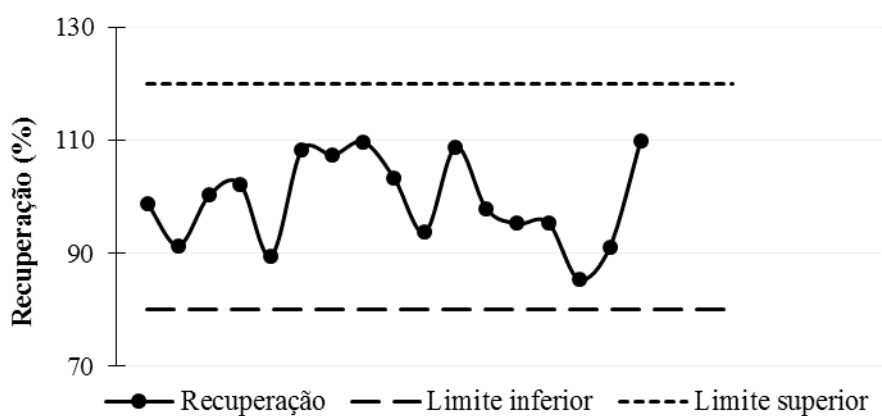


Figura 5 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do ferro para 3 leituras.

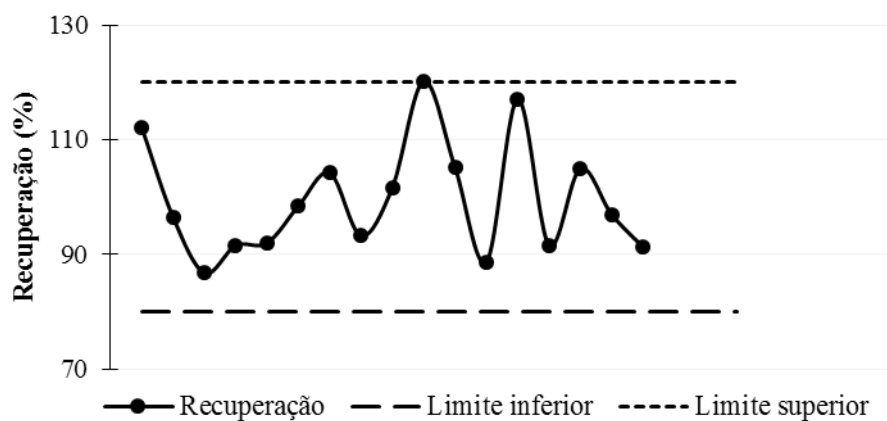


Figura 6 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do ferro para 1 leitura.

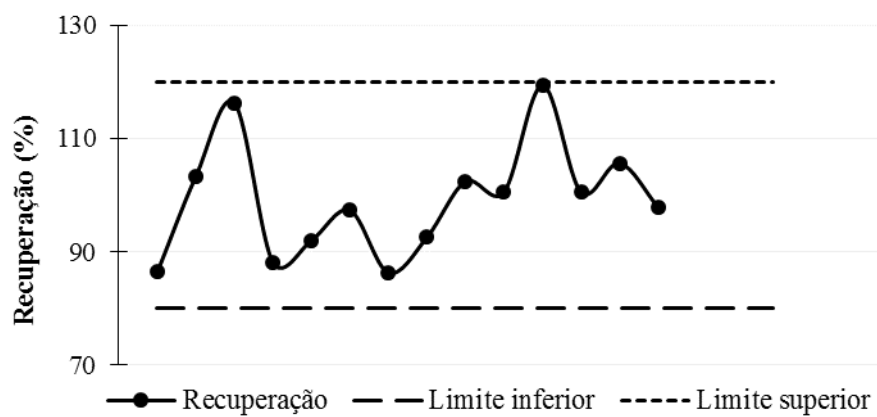


Figura 7 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do níquel para 3 leituras.

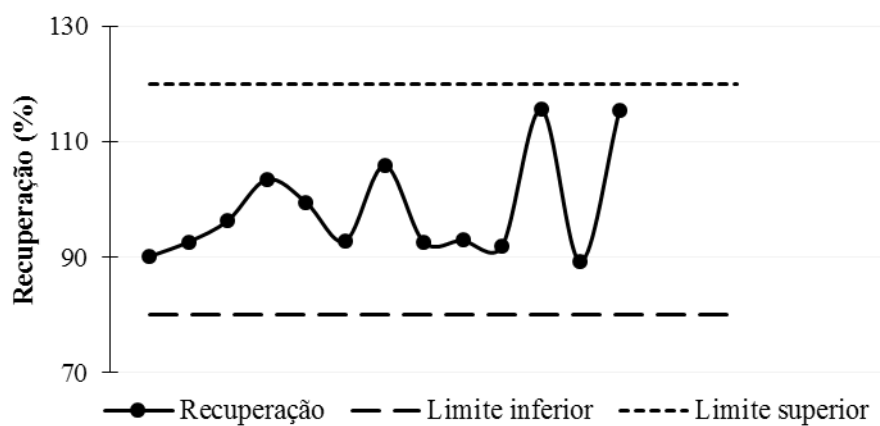
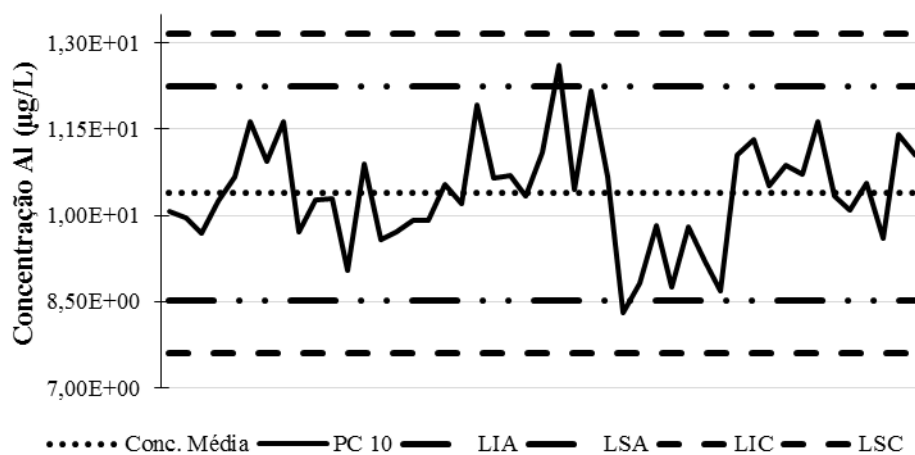


Figura 8 - Carta de aceitação de ensaios de recuperação do níquel para 1 leitura.

ANEXO 5

Cartas de controle dos padrões de controle



LIA – Limite Inferior de Aviso

LSA – Limite Superior de Aviso

LIC – Limite Inferior de Controle

LSC – Limite Superior de Controle

Figura 1 - Carta de controle do PC10 do alumínio para 3 leituras.

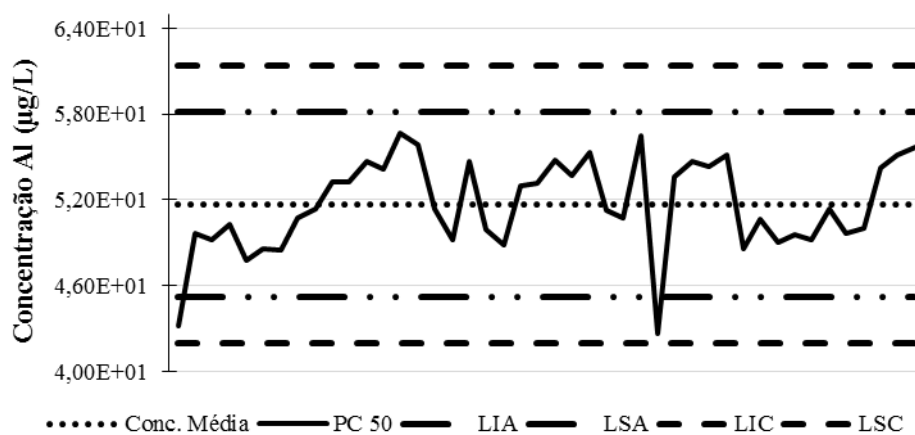


Figura 2 - Carta de controle do PC50 do alumínio para 3 leituras.

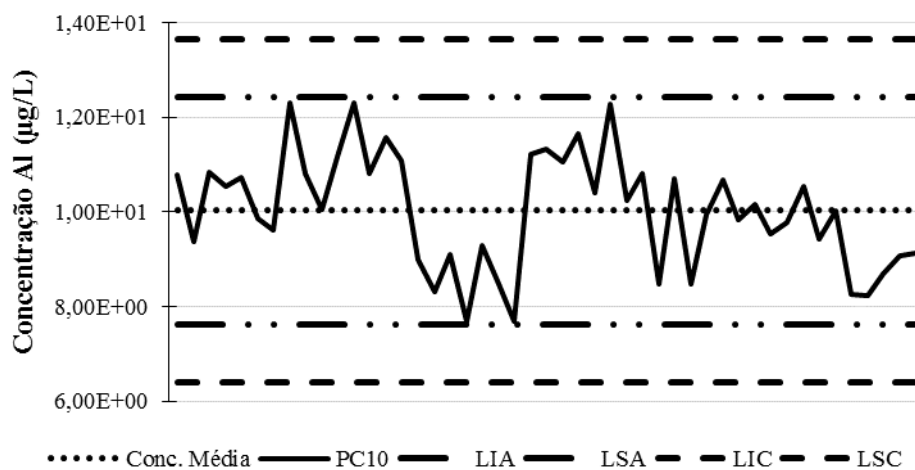


Figura 3 - Carta de controle do PC10 do alumínio para 1 leitura.

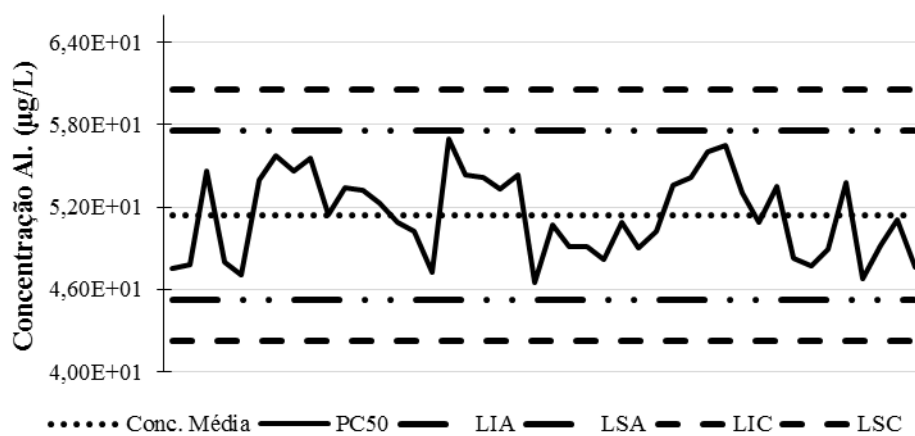


Figura 4 - Carta de controle do PC50 do alumínio para 1 leitura.

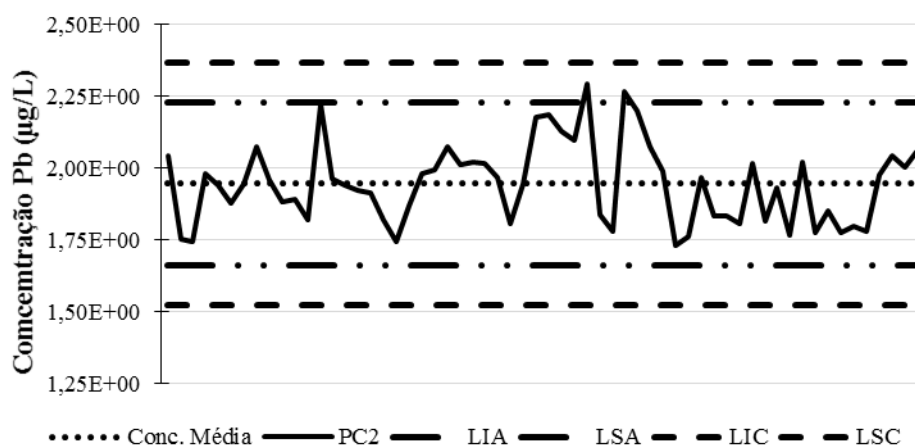


Figura 5 – Carta de controle do PC2 do chumbo para 3 leituras.

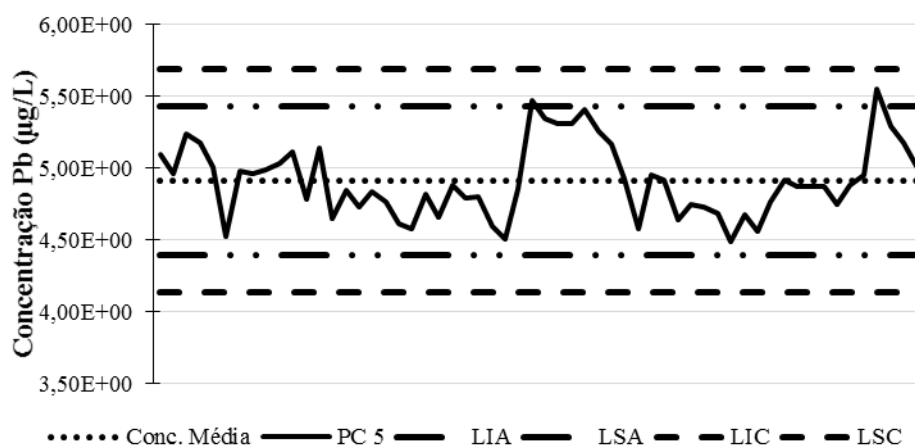


Figura 6 – Carta de controle do PC5 do chumbo para 3 leituras.

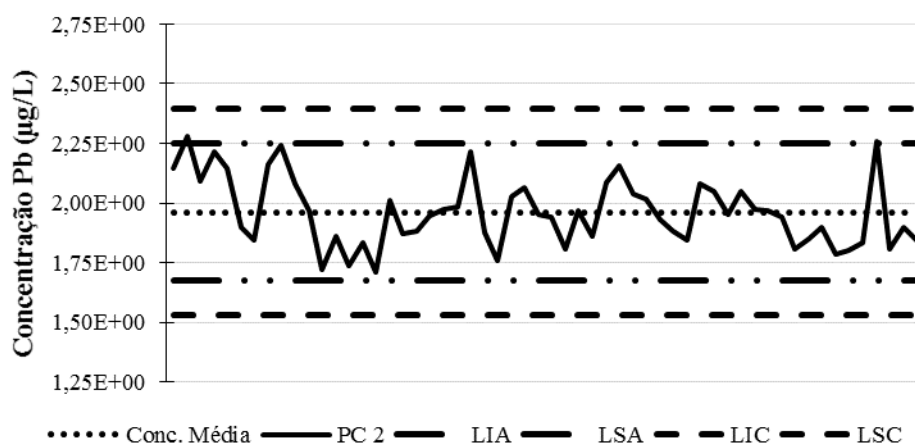


Figura 7 – Carta de controle do PC2 do chumbo para 1 leitura.

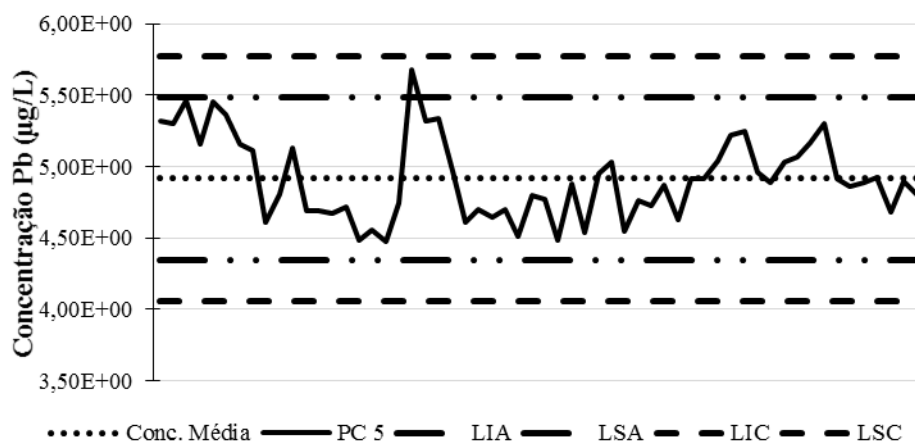


Figura 8 - Carta de controle do PC5 do chumbo para 1 leitura.

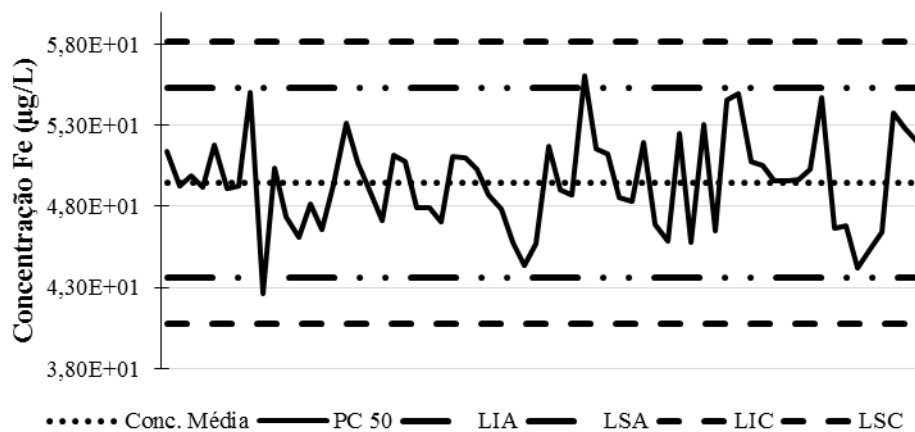


Figura 9 - Carta de controle do PC50 do ferro para 3 leituras.

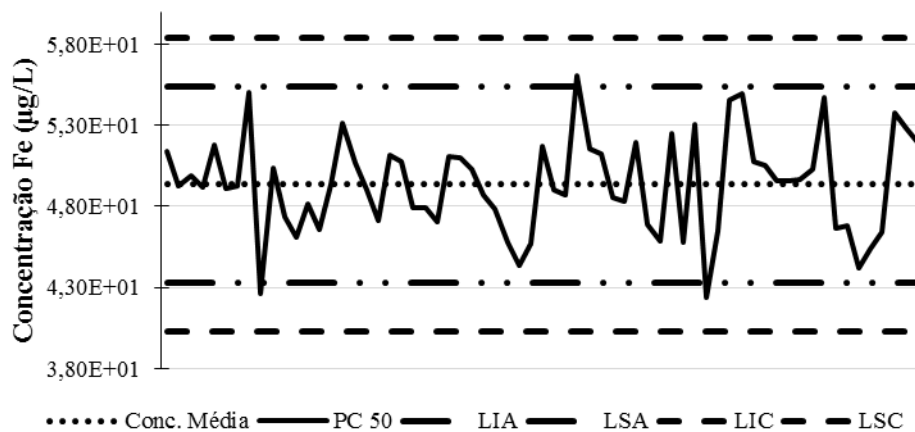


Figura 10 - Carta de controle do PC20 do ferro para 3 leituras.

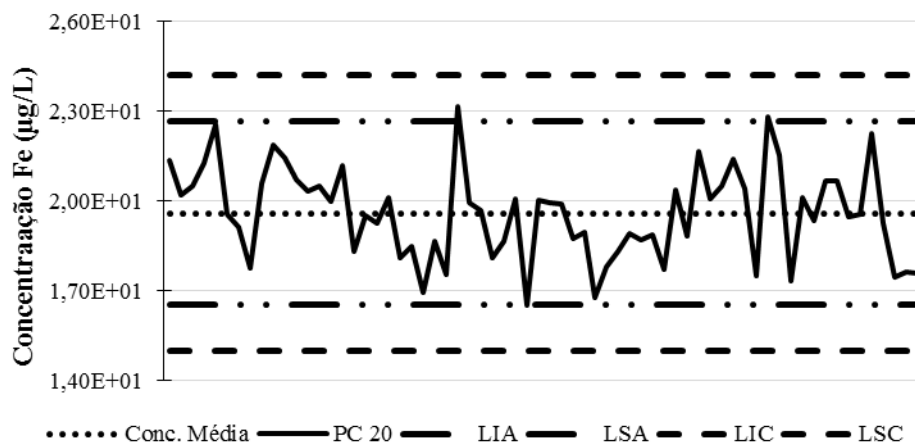


Figura 11 - Carta de controle do PC20 do ferro para 1 leitura.

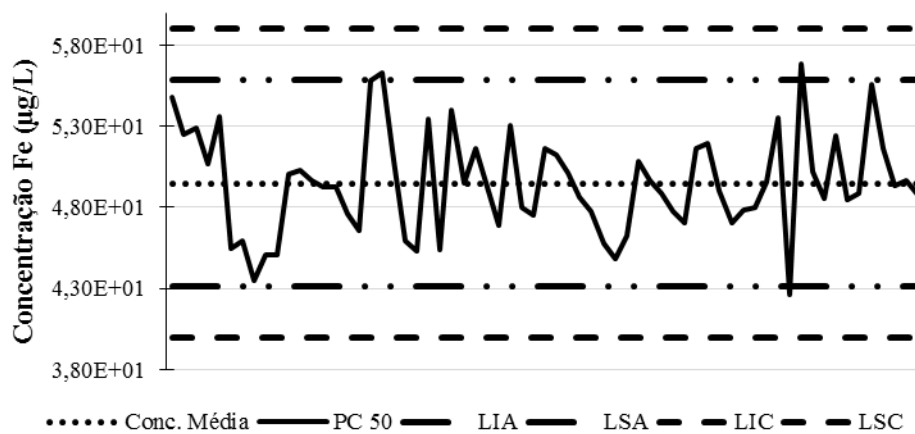


Figura 12 - Carta de controle do PC50 do ferro para 1 leitura.

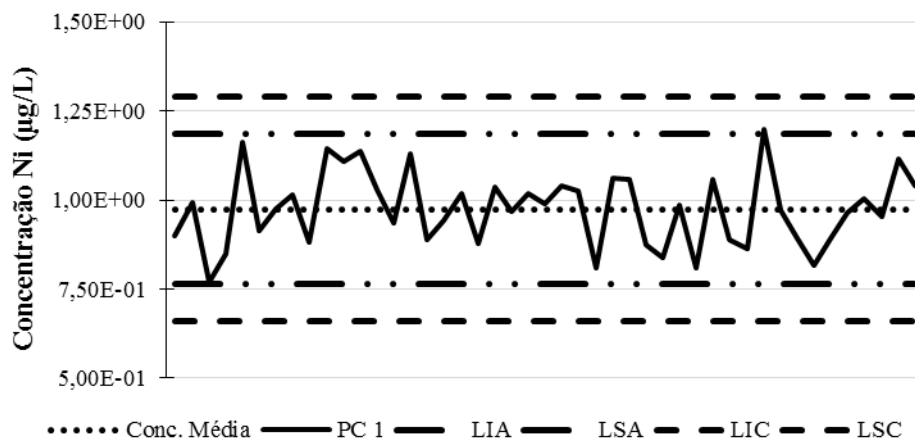


Figura 13 - Carta de controle do PC1 do níquel para 3 leituras.

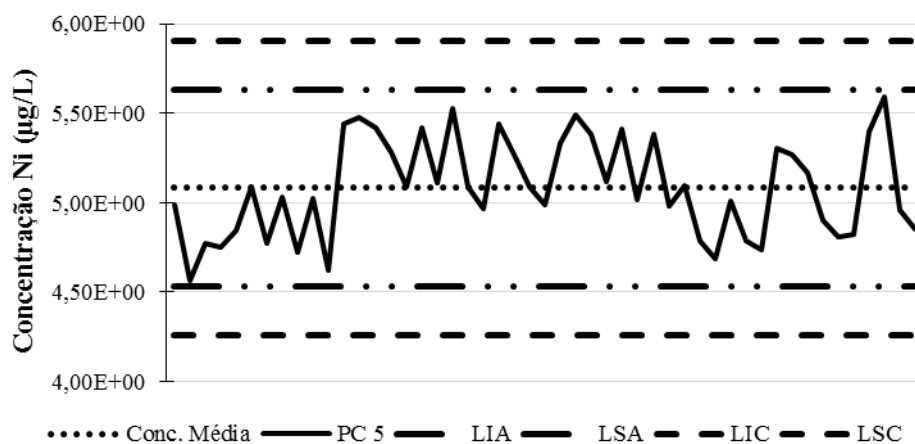


Figura 14 - Carta de controle do PC5 do níquel para 3 leituras.

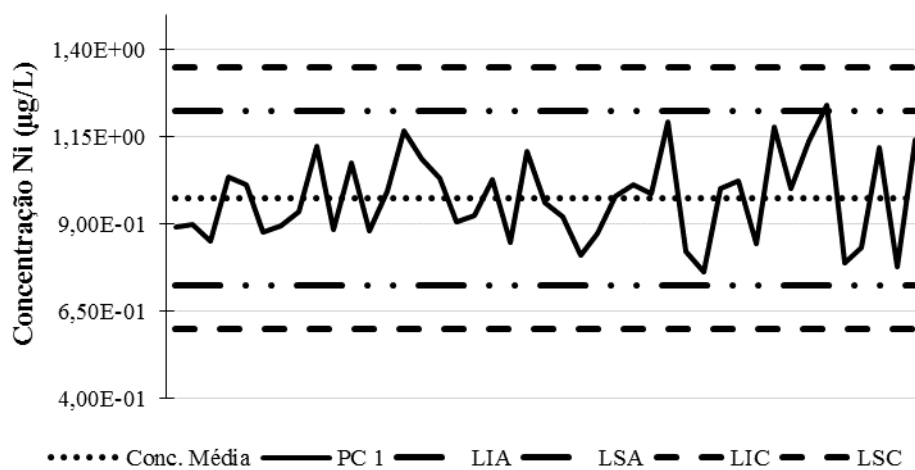


Figura 15 - Carta de controle do PC1 do níquel para 1 leitura.

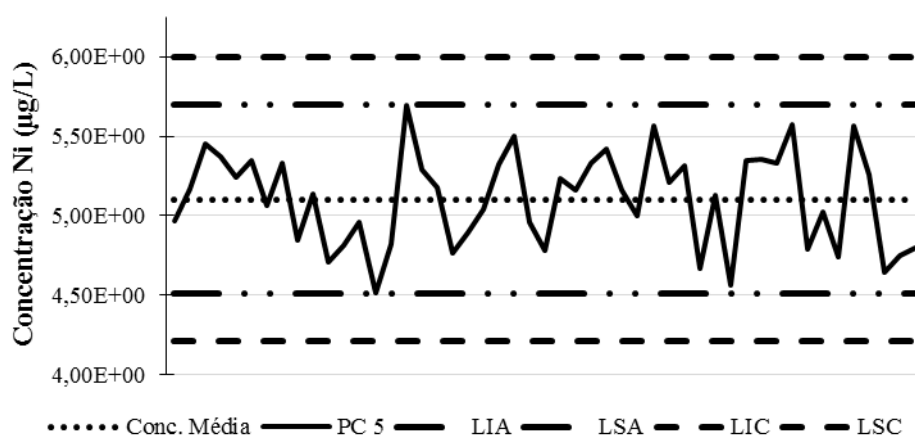


Figura 16- Carta de controle do PC5 do níquel para 1 leitura.

ANEXO 6

Comparação de resultados de amostras analisadas com 1 e 3 leituras

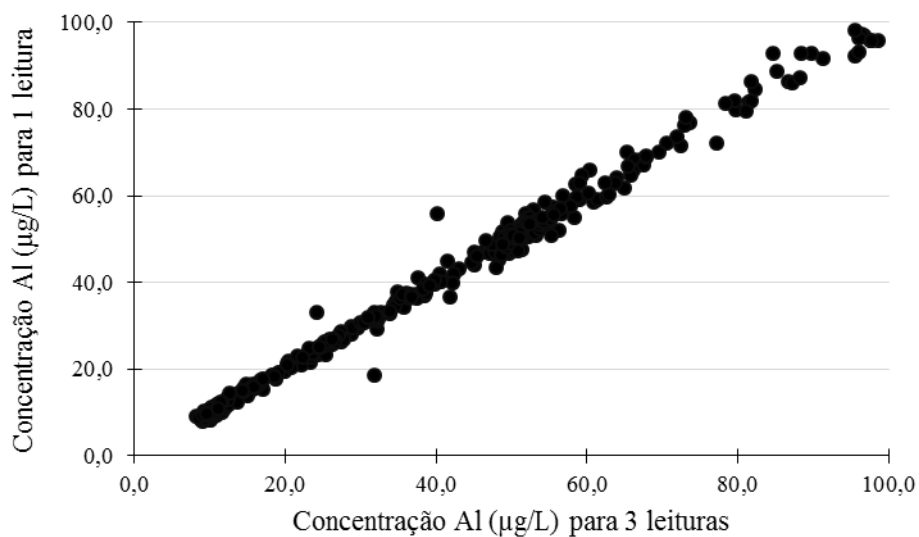


Figura 1 – Correlação da concentração de alumínio nas amostras analisadas com 1 e 3 leituras.

Tabela 1 – Regressão relativa à correlação das amostras analisadas para o alumínio com 1 e 3 leituras.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,996
R ²	0,993
R ² ajustado	0,993
Erro-padrão	2,00
Observações	376

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significância</i>
Regressão	1	2,06E+05	2,06E+05	5,16E+04	0
Residual	374	1,49E+03	4,00		
Total	375	2,08E+05			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor P</i>	<i>95% inferior</i>	<i>95% superior</i>
Interceptar	-0,107	0,201	-0,530	0,596	-0,503	0,289
Variável X 1	1,01	4,43E-03	227	0	0,997	1,01

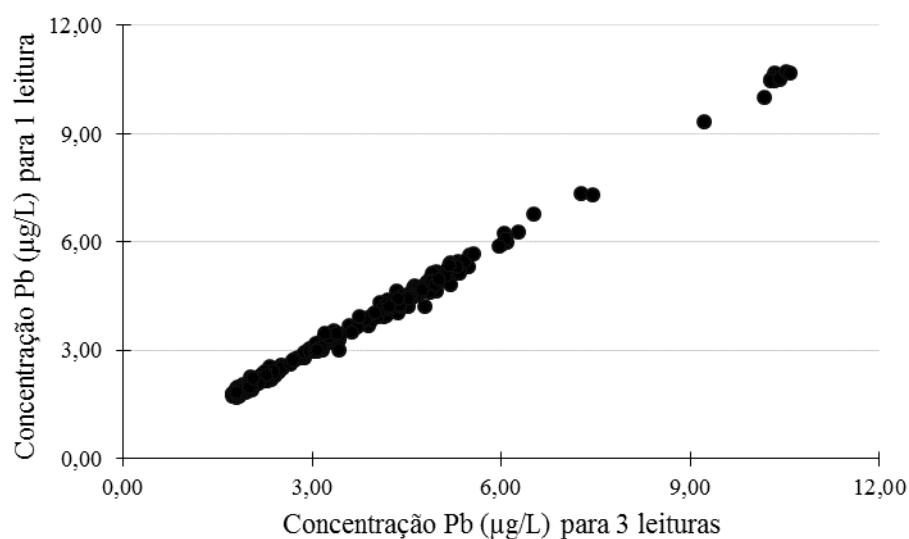


Figura 2 - Correlação da concentração de chumbo nas amostras analisadas com 1 e 3 leituras.

Tabela 2 – Regressão para a correlação das amostras analisadas para o chumbo com 1 e 3 leituras.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,998
R ²	0,996
R ² ajustado	0,996
Erro-padrão	0,118
Observações	272

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significância</i>
Regressão	1	968	968	6,99E+04	0
Residual	270	3,74	1,38E-02		
Total	271	972			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor P</i>	<i>95% inferior</i>	<i>95% superior</i>
Interceptar	-2,33E-02	1,61E-02	-1,45	0,148	-5,49E-02	8,33E-03
Variável X 1	1,01	3,81E-03	264	0	1,00	1,01

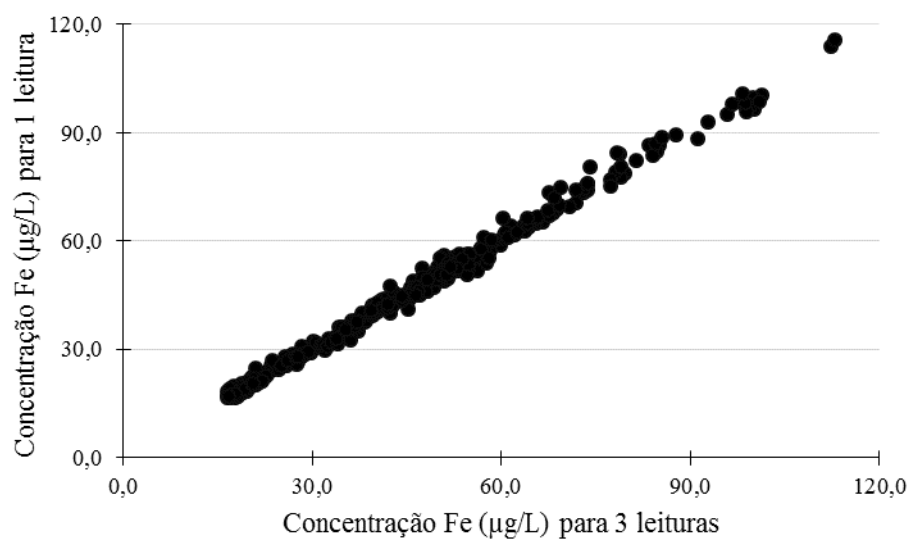


Figura 3 - Correlação da concentração de ferro nas amostras analisadas com 1 e 3 leituras.

Tabela 3 – Regressão para a correlação das amostras analisadas para o ferro com 1 e 3 leituras.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,997
R^2	0,995
R^2 ajustado	0,995
Erro-padrão	1,49
Observações	439

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significância</i>
Regressão	1	1,82E+05	1,82E+05	8,19E+04	0
Residual	437	970	2,22		
Total	438	1,83E+05			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor P</i>	<i>95% inferior</i>	<i>95% superior</i>
Interceptar	0,204	0,169	1,21	0,227	-0,128	0,536
Variável X 1	1,00	3,51E-03	286	0	0,997	1,01

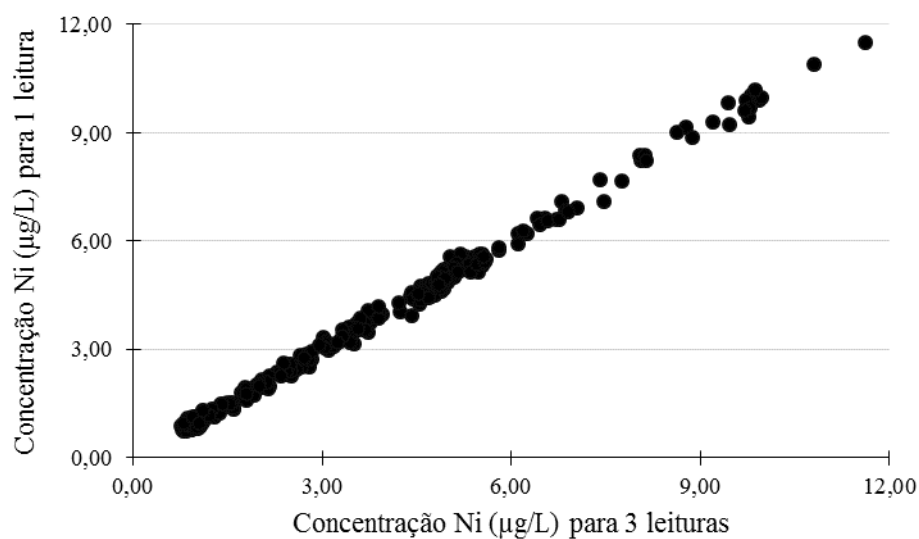


Figura 4 - Correlação da concentração de níquel nas amostras analisadas com 1 e 3 leituras.

Tabela 4 - Regressão para a correlação das amostras analisadas para o níquel com 1 e 3 leituras.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,998
R^2	0,996
R^2 ajustado	0,996
Erro-padrão	0,144
Observações	328

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significância</i>
Regressão	1	1,86E+03	1,86E+03	8,92E+04	0
Residual	326	6,78	2,08E-02		
Total	327	1,86E+03			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor P</i>	<i>95% inferior</i>	<i>95% superior</i>
Interceptar	-1,75E-02	1,47E-02	-1,19	0,235	-4,65E-02	1,15E-02
Variável X 1	1,01	3,37E-03	299	0	0,999	1,01

ANEXO 7

Fichas de validação para os metais em estudo

Tabela 1 – Ficha de validação para o alumínio.

Requisitos para o método de ensaio							
Alumínio							
Parâmetro característico:				Requisito	Valor obtido para 3 leituras	Valor obtido para 1 leituras	Observações
Especificidade/seletividade		Interferências de matriz (recuperações)		80 a 120%	80 a 118%	80 a 112%	Valores mínimo e máximo
Quantificação		Coeficiente de correlação (r)		0,995	0,9978 a 0,9994	0,9935 a 0,9989	Valores mínimo e máximo
		Sensibilidade/Declive		-	6,14E-03 a 7,08E-03	6,10E-03 a 7,06E-03	Valores mínimo e máximo
		Gama de trabalho		10 a 100 µg/L			Não aplicável
		Limite de quantificação obtido a partir dos parâmetros da reta		66 µg/L	13,9 a 27,2 µg/L	19,4 a 46,8 µg/L	Requisito de acordo com o valor estipulado no Decreto-Lei 306/2007
Exatidão	Precisão	Coef. de variação de repetibilidade		15%	2 a 8%	2 a 12%	Valores mínimo e máximo
		Avaliação de duplicados (soluções)		10% (15% para amostras junto ao LQ)	0 a 10%	0 a 12%	Valores mínimo e máximo
	Veracidade	Padrões de Controlo	10 µg/L	7,5 a 12,5 µg/L	8,3 a 12,2 µg/L	7,7 a 12,3 µg/L	Valores mínimo e máximo
			50 µg/L	42,5 a 57,5 µg/L	42,6 a 56,7 µg/L	46,5 a 56,9 µg/L	

Tabela 2 – Ficha de validação para o chumbo.

Requisitos para o método de ensaio							
Chumbo							
Parâmetro característico:				Requisito	Valor obtido para 3 leituras	Valor obtido para 1 leituras	Observações
Especificidade/seletividade		Interferências de matriz (recuperações)		80 a 120%	81 a 115%	81 a 118%	Valores mínimo e máximo
Quantificação		Coeficiente de correlação (r)		≥0,995	0,9987 a 0,9999	0,9969 a 0,9999	Valores mínimo e máximo
		Sensibilidade/Declive		-	5,64E-03 a 9,13E-03	5,71E-03 a 9,46E-03	Valores mínimo e máximo
		Gama de trabalho		2 a 10 µg/L			Não aplicável
		Limite de quantificação obtido a partir dos parâmetros da reta		3,3 µg/L	0,46 a 1,9 µg/L	0,19 a 2,9µg/L	Requisito de acordo com o valor estipulado no Decreto-Lei 306/2007
Exatidão	Precisão	Coef. de variação de repetibilidade		15%	1 a 7%	2 a 7%	Valores mínimo e máximo
		Avaliação de duplicados (soluções)		≤10% (15% para amostras junto ao LQ)	0 a 8%	0 a 12%	Valores mínimo e máximo
	Veracidade	Padrões de Controlo	2 µg/L	1,7 a 2,3 µg/L	1,7 a 2,3 µg/L	1,7 a 2,3 µg/L	Valores mínimo e máximo
			5 µg/L	4,25 a 5,75 µg/L	4,5 a 5,6 µg/L	4,5 a 5,7 µg/L	

Tabela 3 – Ficha de validação para o cobre.

Requisitos para o método de ensaio							
Cobre							
Parâmetro característico:			Requisito	Valor obtido para 3 leituras	Valor obtido para 1 leituras	Observações	
Especificidade/seletividade		Interferências de matriz (recuperações)		80 a 120%	80 a 119%	82 a 115%	Valores mínimo e máximo
Quantificação		Coeficiente de correlação (r)		≥0,995	0,9984 a 0,9997	0,9984 a 0,9998	Valores mínimo e máximo
		Sensibilidade/Declive		-	1,59E-02 a 2,76E-02	1,59E-02 a 2,77E-02	Valores mínimo e máximo
		Gama de trabalho		2 a 10 µg/L	-	-	Não aplicável
		Limite de quantificação obtido a partir dos parâmetros da reta		660 µg/L	0,97 a 2,4 µg/L	0,85 a 2,3 µg/L	Requisito de acordo com o valor estipulado no Decreto-Lei 306/2007
Exatidão	Precisão	Coef. de variação de repetibilidade		15%	1 a 4%	1 a 6%	Valores mínimo e máximo
		Avaliação de duplicados (soluções)		≤10% (15% para amostras junto ao LQ)	0 a 9%	0 a 11%	Valores mínimo e máximo
	Veracidade	Padrões de Controlo	2 µg/L	1,6 a 2,4 µg/L	1,7 a 2,3 µg/L	1,7 a 2,3 µg/L	Valores mínimo e máximo
			5 µg/L	4,5 a 5,5 µg/L	4,5 a 5,4 µg/L	4,5 a 5,4 µg/L	

Tabela 4 – Ficha de validação para o ferro.

Requisitos para o método de ensaio								
Ferro								
Parâmetro característico:				Requisito	Valor obtido para 3 leituras	Valor obtido para 1 leituras	Observações	
Especificidade/seletividade		Interferências de matriz (recuperações)		80 a 120%	85 a 110%	87 a 120%	Valores mínimo e máximo	
Quantificação		Coeficiente de correlação ®		≥0,995	0,9979 a 0,9998	0,9975 a 0,9998	Valores mínimo e máximo	
		Sensibilidade/ Declive		-	4,77E-03 a 5,90E-03	4,70E-03 a 5,94E-03	Valores mínimo e máximo	
		Gama de trabalho		20 a 100 µg/L				Não aplicável
		Limite de quantificação obtido a partir dos parâmetros da reta		66 µg/L	8,3 a 24,3 µg/L	6,7 a 26,6 µg/L	Requisito de acordo com o valor estipulado no Decreto-Lei 306/2007	
Exatidão	Precisão	Coef. de variação de repetibilidade		15%	1 a 5%	2 a 5%	Valores mínimo e máximo	
		Avaliação de duplicados (soluções)		≤10% (15% para amostras junto ao LQ)	0 a 10%	0 a 9%	Valores mínimo e máximo	
	Veracidade	Padrões de Controlo	20 µg/L	16 a 24 µg/L	17,4 a 22,7 µg/L	16,5 a 23,1 µg/L	Valores mínimo e máximo	
			50 µg/L	42,5 a 57,5 µg/L	42,6 a 56,1 µg/L	42,6 a 56,8 µg/L		

Tabela 5 – Ficha de validação para o níquel.

Requisitos para o método de ensaio							
Níquel							
Parâmetro característico:				Requisito	Valor obtido para 3 leituras	Valor obtido para 1 leituras	Observações
Especificidade/seletividade		Interferências de matriz (recuperações)		80 a 120%	86 a 119%	89 a 116%	Valores mínimo e máximo
Quantificação		Coeficiente de correlação (r)		≥0,995	0,9991 a 0,9998	0,9977 a 0,9994	Valores mínimo e máximo
		Sensibilidade/Declive		-	1,83E-02 a 2,41E-02	1,81E-02 a 2,44E-02	Valores mínimo e máximo
		Gama de trabalho		1 a 10 µg/L			Não aplicável
		Limite de quantificação obtido a partir dos parâmetros da reta		6,6 µg/L	0,68 a 1,56 µg/L	1,3 a 2,5 µg/L	Requisito de acordo com o valor estipulado no Decreto-Lei 306/2007
Exatidão	Precisão	Coef. de variação de repetibilidade		15%	1 a 12%	2 a 13%	Valores mínimo e máximo
		Avaliação de duplicados (soluções)		≤10% (15% para amostras junto ao LQ)	0 a 14%	0 a 15%	Valores mínimo e máximo
	Veracidade	Padrões de Controlo	1 µg/L	0,75 a 1,25 µg/L	0,77 a 1,2 µg/L	0,76 a 1,2 µg/L	Valores mínimo e máximo
			5 µg/L	4,25 a 5,75 µg/L	4,6 a 5,6 µg/L	4,5 a 5,7 µg/L	